

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
22. November 2001 (22.11.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 01/88511 A1

(51) Internationale Patentklassifikation: G01N 21/77,  
33/543

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/00605

(22) Internationales Anmeldedatum:  
19. Januar 2001 (19.01.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
888/00 6. Mai 2000 (06.05.2000) CH  
2095/00 26. Oktober 2000 (26.10.2000) CH

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): ZEPTOSENS AG [CH/CH]; Benkenstrasse 254,  
CH-4108 Witterswil (CH).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PAWLAK, Michael  
[DE/DE]; Andelsbachstrasse 5, 79725 Laufenburg (DE).

EHRAT, Markus [CH/CH]; Im Brül 6, CH-4312 Mag-  
den (CH). DUVENECK, Gert [DE/DE]; Ezmattenweg  
34, 79189 Bad Krozingen (DE). BOPP, Martin [CH/CH];  
Brunmattstrasse 5, CH-4053 Basel (CH).

(74) Gemeinsamer Vertreter: ZEPTOSENS AG; Benken-  
strasse 254, CH-4108 Witterswil (CH).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AL, AM, AT, AU,  
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE,  
DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID,  
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT,  
LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL,  
PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ,  
UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW),  
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,  
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,  
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),  
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML,  
MR, NE, SN, TD, TG).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: GRATING OPTICAL WAVEGUIDE STRUCTURE FOR MULTI-ANALYTE DETERMINATIONS AND THE USE THEREOF

(54) Bezeichnung: GITTER-WELLENLEITER-STRUKTUR FÜR MULTIANALYTBESTIMMUNGEN UND DEREN VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to variable embodiments of a grating optical waveguide structure which enables the determination of locally resolved modifications of the resonance conditions for injecting an excitation light into the wave-guiding layer (a) of a stratified optical waveguide via the grating structure (c) modulated in said layer (a) or for extracting a light guided inside layer (a). The inventive system comprises arrays of measuring areas produced thereupon each having different immobilized biological or biochemical or synthetic identification elements for simultaneously binding and determining one or more analytes. Said excitation light is simultaneously irradiated onto an entire array of measuring areas, and the degree of satisfaction of the resonance condition for the injection of light into the layer (a) is simultaneously measured in said measuring areas. The invention also relates to an optical system comprising at least one excitation light source and at least one locally resolving detector and, optionally, positioning elements for altering the angle of incidence of the excitation light onto the inventive grating optical waveguide structure. The invention additionally relates to a corresponding measuring method and to the use thereof. Surprisingly, it has been found that the inventive method is well-suited as an imaging detection method with high local resolution and sensitivity.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft variable Ausführungsformen einer Gitter-Wellenleiter-Struktur, welche es ermöglicht, ortsauflöst Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die wellenleitende Schicht (a) eines optischen Schichtwellenleiters über in der Schicht (a) modulierte Gitterstruktur (c) oder Auskopplung eines in der Schicht (a) geführten Lichts, mit darauf erzeugten Arrays von Messbereichen mit jeweils unterschiedlichen immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen zur gleichzeitigen Bindung und Bestimmung einer oder mehrerer Analyten, zu bestimmen, wobei besagtes Anregungslicht gleichzeitig auf ein ganzes Array von Messbereichen eingestrahlt wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu besagten Messbereichen gleichzeitig gemessen wird. Die Erfindung betrifft auch ein optisches System mit mindestens einer Anregungslichtquelle und mindestens einem ortsauflösenden Detektor sowie optional Positionierelementen zur Veränderung des Einstrahlwinkels des Anregungslichts auf die erfindungsgemässe Gitter-Wellenleiter-Struktur sowie ein zugehöriges Messverfahren und dessen Verwendung. Dabei wurde überraschend gefunden, dass das erfindungsgemässe Verfahren als ein bildgebendes Nachweisverfahren mit hoher Ortsauflösung und Empfindlichkeit geeignet ist.



WO 01/88511 A1



**Veröffentlicht:**

— mit internationalem Recherchenbericht

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

## **Gitter-Wellenleiter-Struktur für Multianalytbestimmungen und deren Verwendung**

Die Erfindung betrifft variable Ausführungsformen einer Gitter-Wellenleiter-Struktur, welche es ermöglicht, orts aufgelöst Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die wellenleitende Schicht (a) eines optischen Schichtwellenleiters über eine in der Schicht (a) modulierte Gitterstruktur (c) oder Auskopplung eines in der Schicht (a) geführten Lichts, mit darauf erzeugten Arrays von Messbereichen mit jeweils unterschiedlichen immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen zur gleichzeitigen Bindung und Bestimmung einer oder mehrerer Analyten, zu bestimmen, wobei besagtes Anregungslicht gleichzeitig auf ein ganzes Array von Messbereichen eingestrahlt wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu besagten Messbereichen gleichzeitig gemessen wird. Die Erfindung betrifft auch ein optisches System mit mindestens einer Anregungslichtquelle und mindestens einem ortsauflösenden Detektor sowie optional Positionierelementen zur Veränderung des Einstrahlwinkels des Anregungslichts auf die erfindungsgemäße Gitter-Wellenleiter-Struktur sowie ein zugehöriges Messverfahren und dessen Verwendung. Dabei wurde überraschend gefunden, dass das erfindungsgemäße Verfahren als ein bildgebendes Nachweisverfahren mit hoher Ortsauflösung und Empfindlichkeit geeignet ist.

Als „orts aufgelöste“ Bestimmung eines physikalischen Parameters, von dessen Verteilung über eine auszumessende, vorzugsweise ebene Messfläche, soll verstanden werden, dass diesem Parameter durch eine entsprechende Messung ein eindeutiger Wert als Funktion seiner x- und y-Koordinaten, bezogen auf besagte Messfläche, zugeordnet werden kann. Die maximal erreichbare Ortsauflösung ist dabei beispielsweise begrenzt durch die Auflösung des Detektionssystems.

Zur Bestimmung einer Vielzahl von Analyten sind gegenwärtig vor allem Verfahren verbreitet, in denen in sogenannten Mikrotiterplatten der Nachweis unterschiedlicher Analyten in diskreten Probenbehältnissen oder "Wells" dieser Platten erfolgt. Am weitesten verbreitet sind dabei Platten mit einem Raster von 8 x 12 Wells auf einer Grundfläche von typischerweise ca. 8 cm x 12 cm, wobei zur Füllung eines einzelnen Wells ein Volumen von einigen hundert Mikrolitern

erforderlich ist. Für zahlreiche Anwendungen wäre es jedoch wünschenswert, mehrere Analyten in einem einzigen Probenbehältnis, unter Einsatz eines möglichst kleinen Probenvolumens zu bestimmen.

In der US-P 5,747,274 werden Messanordnungen und Verfahren zur Früherkennung eines Herzinfarkts, durch die Bestimmung mehrerer von mindestens drei Herzinfarktmarkern beschrieben, wobei die Bestimmung dieser Marker in individuellen oder in einem gemeinsamen Probenbehältnis erfolgen kann, wobei im letzteren Falle, der gegebenen Beschreibung folgend, ein einziges Probenbehältnis als ein durchgehender Flusskanal ausgebildet ist, dessen eine Begrenzungsfläche beispielsweise eine Membran bildet, auf der Antikörper für die drei verschiedenen Marker immobilisiert sind. Es gibt jedoch keine Hinweise auf eine Bereitstellung von mehreren derartigen Probenbehältnissen oder Flusskanälen auf einem gemeinsamen Träger. Ausserdem werden keine geometrischen Angaben über die Grössen der Messflächen gegeben.

In den WO 84/01031, US-P 5,807,755, US-P 5,837,551 und US-P 5,432,099 wird die Immobilisierung für den Analyten spezifischer Erkennungselemente in Form kleiner "Spots" mit teilweise deutlich unter  $1 \text{ mm}^2$  Fläche auf festen Trägern vorgeschlagen, um durch Bindung eines nur kleinen Teils vorhandener Analytmoleküle eine nur von der Inkubationszeit abhängige, aber – in Abwesenheit eines kontinuierlichen Flusses - vom absoluten Probenvolumen im wesentlichen unabhängige Konzentrationsbestimmung des Analyten vornehmen zu können. Die in den zugehörigen Ausführungsbeispielen beschriebenen Messanordnungen beruhen auf Fluoreszenznachweisen in konventionellen Mikrotiterplatten. Dabei werden auch Anordnungen beschrieben, in denen Spots von bis zu drei unterschiedlichen fluoreszenzmarkierten Antikörpern in einem gemeinsamen Mikrotiterplattenwell ausgemessen werden. Den in diesen Patentschriften dargelegten theoretischen Überlegungen folgend, wäre eine Minimierung der Spotgrösse wünschenswert. Limitierend wirke jedoch die minimale Signalthöhe, die vom Untergrundsignal unterschieden werden könne.

Zur Erreichung tieferer Nachweisgrenzen sind in den vergangenen Jahren zahlreiche Messanordnungen entwickelt worden, in denen der Nachweis des Analyten auf dessen Wechselwirkung mit dem evaneszenten Feld beruht, welches mit der Lichtleitung in einem optischen Wellenleiter verbunden ist, wobei auf der Oberfläche des Wellenleiters biochemische

oder biologische Erkennungselemente zur spezifischen Erkennung und Bindung der Analytmoleküle immobilisiert sind.

Koppelt man eine Lichtwelle in einen optischen Wellenleiter ein, der von optisch dünneren Medien, d.h. Medien mit niedrigerem Brechungsindex umgeben ist, so wird sie durch TotalReflexion an den Grenzflächen der wellenleitenden Schicht geführt. In die optisch dünneren Medien tritt dabei ein Bruchteil der elektromagnetischen Energie ein. Diesen Anteil bezeichnet man als evaneszentes oder quergedämpftes Feld. Die Stärke des evaneszenten Feldes ist sehr stark abhängig von der Dicke der wellenleitenden Schicht selbst sowie vom Verhältnis der Brechungsindices der wellenleitenden Schicht und der sie umgebenden Medien. Bei dünnen Wellenleitern, d. h. Schichtdicken von derselben oder niedrigerer Dicke als der zu führenden Wellenlänge, können diskrete Moden des geleiteten Lichts unterschieden werden. Derartige Verfahren haben den Vorteil, dass die Wechselwirkung mit dem Analyten auf die Eindringtiefe des evaneszenten Feldes ins angrenzende Medium, in der Grössenordnung von einigen hundert Nanometern, beschränkt ist und Störsignale aus der Tiefe des Mediums weitgehend vermieden werden können. Die ersten vorgeschlagenen derartigen Messanordnungen beruhten auf hochmultimodalen, selbsttragenden Einschichtwellenleitern, wie beispielsweise Fasern oder Plättchen aus transparentem Kunststoff oder Glas, mit Stärken von einigen hundert Mikrometern bis zu mehreren Millimetern.

In der WO 94/27137 werden Messanordnungen beschrieben, in denen "Patches" mit unterschiedlichen Erkennungselementen, zum Nachweis unterschiedlicher Analyten, auf einem selbsttragenden optischen Substratwellenleiter (Einschichtwellenleiter) mit Stirnflächenlichteinkopplung immobilisiert sind, wobei die räumlich selektive Immobilisierung mittels photoaktivierbarer Crosslinker erfolgt. Gemäss der gegebenen Beschreibung können mehrere Patches in Reihe in gemeinsamen parallelen Flusskanälen oder Probenbehältnissen angeordnet sein, wobei sich die parallelen Flusskanäle oder Probenbehältnisse über die gesamte Länge des als Sensor genutzten Bereichs des Wellenleiters erstrecken, um eine Beeinträchtigung der Lichtleitung im Wellenleiter zu vermeiden. Hinweise auf eine zweidimensionale Integration einer Vielzahl von Patches in Probenbehältnissen relativ kleiner Ausmasse, d.h. von deutlich weniger als  $1\text{cm}^2$  Grundfläche, werden jedoch nicht gegeben. In einer ähnlichen Anordnung werden in der WO 97/35203 verschiedene Ausführungsformen einer Anordnung beschrieben, in der in parallelen, separaten Flusskanälen oder Probenbehältnissen für die Probe und

Kalibrationslösungen niedriger und gegebenenfalls zusätzlich hoher Analytkonzentration unterschiedliche Erkennungselemente zur Bestimmung verschiedener Analyten jeweils immobilisiert sind. Auch hier wird jedoch keinerlei Hinweis gegeben, wie eine hohe Integrationsdichte unterschiedlicher Erkennungselemente in einer zu einem gemeinsamen Behältnis zugeführten Probe erreicht werden könnte. Ausserdem ist die Empfindlichkeit hoch multimodaler, selbsttragender Einschichtwellenleiter für eine Vielzahl von Anwendungen, in denen die Erreichung sehr tiefer Nachweisgrenzen erforderlich ist, nicht ausreichend.

Zur Verbesserung der Empfindlichkeit und gleichzeitig einfacheren Herstellung in Massenfabrication wurden planare Dünnschichtwellenleiter vorgeschlagen. Ein planarer Dünnschichtwellenleiter besteht im einfachsten Fall aus einem Dreischichtsystem: Trägermaterial, wellenleitende Schicht, Superstrat ( bzw. zu untersuchende Probe), wobei die wellenleitende Schicht den höchsten Brechungsindex besitzt. Zusätzliche Zwischenschichten können die Wirkung des planaren Wellenleiters noch verbessern.

Es sind verschiedene Verfahren für die Einkopplung von Anregungslicht in einen planaren Wellenleiter bekannt. Die am frühesten benutzten Verfahren beruhten auf Stirnflächenkopplung oder Prismenkopplung, wobei zur Verminderung von Reflexionen infolge von Luftspalten im allgemeinen eine Flüssigkeit zwischen Prisma und Wellenleiter aufgebracht wird. Diese beiden Methoden sind vor allem in Verbindung mit Wellenleitern relativ grosser Schichtdicke, d. h. insbesondere selbsttragenden Wellenleitern, sowie bei einem Brechungsindex des Wellenleiters von deutlich unter 2 geeignet. Zur Einkopplung von Anregungslicht in sehr dünne, hochbrechende wellenleitende Schichten ist demgegenüber die Verwendung von Koppelgittern eine wesentlich elegantere Methode.

Es können verschiedene Methoden zum Analytnachweis im evaneszenten Feld geführter Lichtwellen in optischen Schichtwellenleitern unterschieden werden. Aufgrund des eingesetzten Messprinzips kann man beispielsweise zwischen Fluoreszenz- oder allgemeiner Lumineszenzmethoden auf der einen Seite und refraktiven Methoden andererseits unterscheiden. Hierbei können Verfahren zur Erzeugung einer Oberflächenplasmonenresonanz in einer dünnen Metallschicht auf einer dielektrischen Schicht mit niedrigerem Brechungsindex in die Gruppe der refraktiven Methoden mit einbezogen werden, sofern als Basis zur Bestimmung der Messgrösse der Resonanzwinkel des eingestrahnten Anregungslichts zur Erzeugung der

Oberflächenplasmonenresonanz dient. Die Oberflächenplasmonenresonanz kann aber auch zur Verstärkung einer Lumineszenz oder zur Verbesserung des Signal-zu-Hintergrund-Verhältnisses in einer Lumineszenzmessung verwendet werden. Die Bedingungen zur Erzeugung einer Oberflächenplasmonenresonanz sowie zur Kombination mit Lumineszenzmessungen sowie mit wellenleitenden Strukturen sind vielfach in der Literatur beschrieben, beispielsweise in den US-Patenten US-P 5,478,755, US-P 5,841,143, US-P 5,006,716 und US-P 4,649,280.

Mit dem Begriff "Lumineszenz" wird in dieser Anmeldung die spontane Emission von Photonen im ultravioletten bis infraroten Bereich nach optischer oder nichtoptischer, wie beispielsweise elektrischer oder chemischer oder biochemischer oder thermischer Anregung, bezeichnet. Beispielsweise sind Chemilumineszenz, Biolumineszenz, Elektrolumineszenz und insbesondere Fluoreszenz und Phosphoreszenz unter dem Begriff "Lumineszenz" mit eingeschlossen.

Bei den refraktiven Messmethoden wird die Änderung des sogenannten effektiven Brechungsindex aufgrund molekularer Adsorption oder Desorption auf dem Wellenleiter zum Nachweis des Analyten benutzt. Diese Änderung des effektiven Brechungsindex wird, im Falle von Gitterkoppler-Sensoren, bestimmt aus der Änderung des Koppelwinkels für die Ein- oder Auskopplung von Licht in oder aus dem Gitterkoppler-Sensor, und im Falle von interferometrischen Sensoren aus der Änderung der Phasendifferenz zwischen dem in einem Sensorarm und einem Referenzarm des Interferometers geführten Messlichts.

Der Stand der Technik zum Einsatz von einem oder mehreren Koppelgittern zum Ein- und/oder Auskoppeln geführter Wellen mittels eines oder mehrerer Koppelgitter ist beispielsweise in K. Tiefenthaler, W. Lukosz, "Sensitivity of grating couplers as integrated-optical chemical sensors", J. Opt. Soc. Am. B6, 209 (1989); W. Lukosz, Ph.M. Nellen, Ch. Stamm, P. Weiss, "Output Grating Couplers on Planar Waveguides as Integrated, Optical Chemical Sensors", Sensors and Actuators B1, 585 (1990), und in T. Tamir, S.T. Peng, „Analysis and Design of Grating Couplers“, Appl. Phys. 14, 235-254 (1977), beschrieben.

In der US-P 5,738,825 wird eine Anordnung bestehend aus einer Mikrotiterplatte mit vollständig durchgehenden Bohrungen und einem Dünnschichtwellenleiter als Bodenplatte, letzterer bestehend aus einem dünnen wellenleitenden Film auf einem transparenten, selbsttragenden Substrat, beschrieben. In Kontakt mit den aus der durchbohrten Mikrotiterplatte und dem

Dünnschichtwellenleiter als Bodenplatte gebildeten, offenen Probenbehältnissen sind jeweils Beugungsgitter für die Ein- und Auskopplung von Anregungslicht vorgesehen, um aus Änderungen des beobachteten Koppelwinkels die dafür verantwortlichen Änderungen des effektiven Brechungsindex infolge von Adsorption oder Desorption von nachzuweisenden Analytmolekülen zu bestimmen. Ein Nachweis mehrerer Analyten in einem Probenbehältnis, durch Bindung an verschiedene auf der Gitterstruktur in dem Probenbehältnis immobilisierte Erkennungselemente, ist jedoch nicht vorgesehen und den Beispielen folgend mit den verwendeten Wellenleiter- und Gitterparametern auch schwer realisierbar. Damit ist auch die mit dieser Anordnung erreichbare Dichte unabhängig voneinander zu untersuchender Messbereiche mit unterschiedlichen Erkennungselementen zum Nachweis unterschiedlicher Analyten für viele Anwendungen (zum Beispiel zur Bestimmung einer Vielzahl unterschiedlicher Nukleinsäuresequenzen in einer kleinvolumigen, d. h.  $< 100 \mu\text{l}$  umfassenden Probe) nicht ausreichend.

In der US-P 5,991,480 wird eine andere Form von Gitterkoppler-Sensoren vorgeschlagen, in denen nicht der Winkel zwischen der Sensorplattform mit einem darauf in einer wellenleitenden Schicht modulierten Gitterstruktur bezüglich eines Anregungslichtstrahls verändert wird, sondern bei Veränderung der Koppelbedingungen die Position der Lichteinkopplung auf der Gitter-Wellenleiter-Struktur, im wesentlichen parallel zu den Gitterlinien, verändert wird. Dieser Effekt wird beispielsweise mithilfe eines sogenannten "chirped gratings" erzielt, wobei das "chirped grating" eine kontinuierliche Änderung der Gitterperiode im wesentlichen parallel zu den Gitterlinien aufweist. Diese Anordnung hat vor allem den Vorteil eines hohen Potentials für die Miniaturisierung der Messanordnung (einschliesslich Lichtquelle und ortsauflösendem Detektor), da insbesondere auf mechanische Positionierelemente verzichtet werden kann. Dabei sind die Dimensionen der diskreten Bereiche von "Chirped Gratings" zur Lichtein- oder auskopplung allerdings nur schwer auf kleinere Dimensionen als einige Quadratmillimeter zu reduzieren.

Es sind weitere Phänomene im Zusammenhang mit Gitter-Wellenleiter-Strukturen bekannt, die bis jetzt noch keine oder kaum Umsatz in analytische Messverfahren gefunden haben. Insbesondere kann bei geeigneter Wahl der Parameter (beispielsweise Gitterperiode und Gittertiefe, Dicke der optisch transparenten Schicht ( $a$ ) eines optischen Wellenleiters sowie dessen Brechungsindex und Brechungsindices der daran angrenzenden Medien) ein nahezu



vollständiges Verschwinden des transmittierten Lichtes und ein Anstieg des in Richtung der Reflexion ausgesandten Lichtes auf nahezu 100 % beobachtet werden. Die physikalischen Bedingungen für das Verschwinden des Transmissionslichts und das gleichzeitige Auftreten einer aussergewöhnlichen "Reflexion" (als Summe aus dem regulären Anteil der Reflexion, entsprechend den Strahlungsgesetzen, und dem über die Gitterstruktur ausgekoppelten Licht) werden beispielsweise in D. Rosenblatt et al., "Resonant Grating Waveguide Structures", IEEE Journal of Quantum Electronics, Vol. 33 (1997) 2038 – 2059 beschrieben und erklärt. In all diesen Arbeiten werden aber jeweils nur die Anteile des im Fernfeld der Gitterstruktur verfügbaren und beobachteten transmittierten oder reflektierten Lichts beschrieben und mit physikalischen Modellen erklärt. Es finden sich keinerlei Hinweise auf die Verteilung der elektromagnetischen Feldstärke oder Intensität an der Oberfläche der Struktur und insbesondere auch keine Hinweise auf Unterschiede in der Transmission oder "Reflexion" innerhalb einer unter den Resonanzbedingungen beleuchteten Fläche eines Koppelgitters.

Die genannten refraktiven Methoden haben den Vorteil, dass sie ohne Verwendung zusätzlicher Markierungsmoleküle, sogenannter molekularer Labels, eingesetzt werden können. Allerdings ist in keiner der genannten refraktiven Messmethoden unter Benutzung von Gitterkopplern zu einem Analytnachweis mittels Bestimmung von Änderungen der Koppelbedingungen bzw. des Koppelwinkels aufgrund von molekularer Adsorption oder Desorption vom Koppelgitter ein Hinweis auf eine orts aufgelöste Detektion innerhalb eines auf ein Koppelgitter eingestrahnten Lichtbündels gegeben. Daher waren diese Methoden für einen Nachweis einer Vielzahl von Analyten auf engem Raum bisher nicht oder nur wenig geeignet.

Es besteht ein Bedürfnis danach, den Vorteil der labelfreien Analytdetektion auch für Arrays hoher Dichte, zum Nachweis einer Vielzahl von Analyten in einer kleinvolumigen Probe einsetzen zu können.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine Gitter-Wellenleiter-Struktur, ein optisches System sowie ein Messverfahren zur labelfreien Analytdetektion mit Arrays hoher Dichte bereitzustellen, zum oben erwähnten Nachweis.

Im Sinne der vorliegenden Erfindung sollen räumlich getrennte Messbereiche (d) durch die Fläche definiert werden, die dort immobilisierte biologische oder biochemische oder

synthetische Erkennungselemente zur Erkennung eines oder mehrerer Analyten aus einer flüssigen Probe einnehmen. Diese Flächen können dabei eine beliebige Geometrie, beispielsweise die Form von Punkten, Kreisen, Rechtecken, Dreiecken, Ellipsen oder Linien, haben. Dabei ist es möglich, durch räumlich selektive Aufbringung von biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen auf der Gitter-Wellenleiter-Struktur räumlich getrennte Messbereiche (d) zu erzeugen. Im Kontakt mit einem Analyten oder eines mit dem Analyten um die Bindung an die immobilisierten Erkennungselemente konkurrierenden Analogen des Analyten oder eines weiteren Bindungspartners in einem mehrstufigen Assay werden diese Moleküle nur selektiv in den Messbereichen an die Oberfläche der Gitter-Wellenleiter-Struktur binden, welche durch die Flächen definiert werden, die von den immobilisierten Erkennungselementen eingenommen werden.

Es wurde nun überraschend gefunden, dass mit einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur (GWS), beispielsweise mit einer in der wellenleitenden Schicht modulierten und sich über die ganze GWS erstreckenden Gitterstruktur, insbesondere bei grossflächiger Beleuchtung (d. h. mit einem Strahldurchmesser von beispielsweise 5 mm), unter oder nahe der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a), Unterschiede im Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung, das heisst lokale Unterschiede in der Massenbelegung der Gitterstruktur, in Form von aufgebrauchten Messbereichen mit biologischen Erkennungselementen wie beispielsweise Oligonukleotide, mit hoher räumlicher Auflösung (von 50  $\mu\text{m}$  oder weniger) und mit einem hohen Kontrast, d.h. einer hohen Empfindlichkeit zur Bestimmung von Unterschieden oder Änderungen der Massenbelegung, bestimmt werden können. Dabei sind Ortsauflösung und Kontrast überraschenderweise so gut, dass sich das erfindungsgemässe Verfahren sogar als ein Bildgebungsverfahren ("imaging method"), zur gleichzeitigen topologischen Charakterisierung der Massenbelegung einer ausgedehnten Oberfläche (in der Grössenordnung mehrerer Quadratmillimeter bis zu mehreren Quadratzentimetern) eignet, wobei beispielsweise zur Bestimmung unterschiedlicher lokaler Massenbelegungen sequentiell Kamerabilder (beispielsweise in Transmission oder in "Reflexion") aufgenommen werden, zwischen denen jeweils der Einstrahlwinkel des Anregungslichts auf die GWS verändert wird, so dass sich in Abhängigkeit von der lokalen Massenbelegung bei unterschiedlichen Winkeln Minima in der Transmission oder Maxima in der "Reflexion" ergeben. Aus diesen sequentiellen Bildern kann dann durch numerische

Verfahren die orts aufgelöste Verteilung der Massenbelegung bestimmt werden. Gegenüber herkömmlichen Verfahren des Analytnachweises aus den Änderungen der Koppelbedingungen, ohne Ortsauflösung, hat das neue erfindungsgemässe Verfahren eine Vielzahl von Vorteilen. Diese betreffen beispielsweise eine viel grössere Schnelligkeit, da sequentielle Bilder im Abstand von Sekundenbruchteilen mit Millisekunden Belichtungszeit erstellt werden können. Weiterhin entfallen jegliche Probleme der Reproduzierbarkeit in der Positionierung, wenn die GWS zwischen sequentieller lokaler Messung an diskreten Messbereichen jeweils in diese neuen Messpositionen gefahren werden muss, wie dieses beim Einsatz der genannten herkömmlichen Verfahren notwendig ist. Weiterhin ermöglicht das Verfahren vorteilhafterweise auch die Durchführung gleichzeitiger kinetischer Messungen für eine Vielzahl von Messbereichen innerhalb eines gemeinsamen Probenbehältnisses auf der GWS, indem "Winkelscans" zur Bestimmung unterschiedlicher Massenbelegung auf der beobachteten Fläche in kurzer Abfolge wiederholt werden können.

Erster Gegenstand der Erfindung ist eine Gitter-Wellenleiter-Struktur zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, umfassend einen optischen Schichtwellenleiter

- mit einer ersten optisch transparenten Schicht (a) auf einer zweiten optisch transparenten Schicht (b) mit niedrigerem Brechungsindex als Schicht (a),
- mit einer oder mehreren Gitterstrukturen (c) zur Einkopplung von Anregungslicht zu den Messbereichen (d) oder Auskopplung von in der Schicht (a) geführtem Licht im Bereich der Messbereiche
- mindestens zwei oder mehr räumlich getrennten Messbereichen (d) auf der einen oder den mehreren Gitterstrukturen (c)
- auf diesen Messbereichen immobilisierten, gleichen oder unterschiedlichen biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen (e) zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer mit den Messbereichen in Kontakt gebrachten Probe,

dadurch gekennzeichnet, dass besagtes Anregungslicht gleichzeitig auf besagtes Array von Messbereichen eingestrahlt wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die

Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu den zwei oder mehr Messbereichen gleichzeitig gemessen wird und ein Übersprechen von in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht von einem Messbereich zu einem oder mehreren benachbarten Messbereichen durch Wiederauskopplung dieses Anregungslichts mittels der Gitterstruktur (c) verhindert wird.

Mit der erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur ist es möglich, orts aufgelöst gleichzeitig die Massenbelegung in einer Vielzahl von Messbereichen auf einer Gitterstruktur (c) zu bestimmen, anhand des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Einkopplung eines Anregungslichtbündels in die optische Schicht (a) im Bereich dieser Messbereiche.

Insbesondere Gegenstand der Erfindung ist daher eine Gitter-Wellenleiter-Struktur zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem zweidimensionalen Array aus mindestens vier oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, umfassend einen optischen Schichtwellenleiter

- mit einer ersten optisch transparenten Schicht (a) auf einer zweiten optisch transparenten Schicht (b) mit niedrigerem Brechungsindex als Schicht (a),
- mit einer oder mehreren Gitterstrukturen (c) zur Einkopplung von Anregungslicht zu den Messbereichen (d) oder Auskopplung von in der Schicht (a) geführtem Licht im Bereich der Messbereiche
- mindestens zwei oder mehr räumlich getrennten Messbereichen (d) auf der einen oder den mehreren Gitterstrukturen (c)
- auf diesen Messbereichen immobilisierten, gleichen oder unterschiedlichen biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen (e) zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer mit den Messbereichen in Kontakt gebrachten Probe,

dadurch gekennzeichnet, die Dichte der Messbereiche auf einer gemeinsamen Gitterstruktur (c) mindestens 10 Messbereiche pro Quadratzentimeter beträgt und dass besagtes Anregungslicht gleichzeitig auf besagtes Array von Messbereichen eingestrahlt wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu besagten Messbereichen gleichzeitig gemessen wird und ein Übersprechen von in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht von einem Messbereich zu einem oder mehreren benachbarten Messbereichen durch Wiederauskopplung dieses Anregungslichts mittels der Gitterstruktur (c) verhindert wird.

Es wird bevorzugt, dass eine durchgehend modulierte Gitterstruktur (c) sich im wesentlichen über den ganzen Bereich der Gitter-Wellenleiter-Struktur erstreckt.

Es werden solche Ausführungsformen der erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur bevorzugt, welche dadurch gekennzeichnet sind, dass die Ortsauflösung zur Bestimmung des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) besser als 200  $\mu\text{m}$  ist. Besonders bevorzugt werden Ausführungsformen, bei denen die Ortsauflösung zur Bestimmung des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) besser als 20  $\mu\text{m}$  ist.

Ein wesentlicher Parameter für die Veränderung der Ortsauflösung oder der Empfindlichkeit zur Bestimmung von Änderungen der Massenbelegungen anhand entsprechender Änderungen der Resonanzbedingungen für die Lichteinkopplung ist die Gittertiefe. Mit der erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur wird ermöglicht, dass die Ortsauflösung zur Bestimmung des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) durch Wahl einer grösseren Modulationstiefe von Gitterstrukturen (c) verbessert oder Wahl einer kleineren Modulationstiefe besagter Gitterstrukturen verringert werden kann. Ebenso ist es möglich, dass die Halbwertsbreite des Resonanzwinkels zur Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) durch Verringerung der Modulationstiefe von Gitterstrukturen (c) verringert oder durch Vergrösserung der Modulationstiefe besagter Gitterstrukturen vergrössert werden kann.

Ebenso kann die Ortsauflösung oder Empfindlichkeit zur Bestimmung von Änderungen des effektiven Brechungsindex auf der Oberfläche der erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur durch Wahl zwischen transversal magnetisch polarisierten Moden (TM) und transversal elektrisch polarisierten Moden entscheidend beeinflusst werden. Beispielsweise weisen TM-Moden im Falle hochbrechender wellenleitender Schichten (a) (z. B. mit Brechungsindex  $>2$ ), welche aufgrund ihrer geringen Schichtdicke (z. B. zwischen 100 nm und 400 nm) nur die Grundmoden eines eingestrahnten Anregungslichts (TM<sub>0</sub> oder TE<sub>0</sub>, siehe auch weiter unten) führen können, in einem Gitterstrukturbereich einer Gitter-Wellenleiter-Struktur (z.B. mit Gittertiefen zwischen 5 nm und 60 nm) eine geringere Dämpfung, d.h. grössere Lauflänge innerhalb der Gitterstruktur, als die entsprechenden TE-Moden (d.h. TE-Moden gleicher

Ordnung) auf. Dieses bedeutet, dass bei gleicher Gittertiefe die Ortsauflösung unter Verwendung von TM-Moden geringer ist. Andererseits ist die Schärfe der Resonanzkurve zur Erfüllung der Einkoppelbedingungen eines Anregungslichts in die wellenleitende Schicht (a) über eine Gitterstruktur (c) bei gleichen Gitterparametern (Gitterperiode und -tiefe) und Schichtparametern (Brechungsindices und Schichtdicken) der Gitter-Wellenleiter-Struktur für TM-Moden deutlich grösser als für TE-Moden. Dieses bedeutet, dass die Auflösung der Signalintensität, d.h. Empfindlichkeit, zur Bestimmung des Ausmasses der Erfüllung der Resonanzbedingungen für TM-Moden grösser ist. Demzufolge ist die Entscheidung zwischen der Verwendung von TM- oder TE-Moden in Abhängigkeit von der jeweiligen Aufgabenstellung zu treffen.

Um mit einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur hochempfindlich und mit einer hohen Ortsauflösung Änderungen der besagten Resonanzbedingungen bestimmen zu können, ist es erwünscht, dass sich die genannten physikalischen Parameter wie Brechungsindex und Schichtdicke der wellenleitenden Schicht sowie Gitterperiode und Gittertiefe, als Parameter der Gitter-Wellenleiter-Struktur selbst, welche sich auf die Empfindlichkeit bei einer Bestimmung einer Änderung der Resonanzbedingungen auswirken, innerhalb einer Fläche auf der Gitter-Wellenleiter-Struktur entsprechend der Fläche eines zu untersuchenden Arrays, möglichst wenig ändern, um damit, abgesehen von den Messbereichen, stabile Resonanzbedingungen, insbesondere einen einheitlichen Koppelwinkel, zu gewährleisten. Typischerweise hat ein gleichzeitig zu untersuchendes Array von Messbereichen eine Grösse von mindestens 2 mm x 2 mm. Daher ist es von Vorteil, wenn – ausserhalb der Messbereiche – der Resonanzwinkel zur Ein- oder Auskopplung eines monochromatischen Anregungslichts („Koppelwinkel“) innerhalb einer solchen Fläche, d.h. innerhalb einer Fläche von mindestens 4 mm<sup>2</sup>, (mit Ausrichtung der Seiten parallel oder nicht parallel zu den Linien der Gitterstruktur (c)) um höchstens 0.1° (als Abweichung von einem Mittelwert) variiert. Selbstverständlich ist es von Vorteil, wenn eine derartig hohe Gleichmässigkeit des Koppelwinkels auch über eine grössere Fläche gewährleistet werden kann. Bevorzugt wird daher, dass der Koppelwinkel auf einer Fläche von mindestens 10 mm x 10 mm (mit Ausrichtung der Seiten parallel oder nicht parallel zu den Linien der Gitterstruktur (c)) um höchstens 0.1° (als Abweichung von einem Mittelwert) variiert. Besonders bevorzugt wird, wenn der Koppelwinkel auf einer Fläche von mindestens 50 mm x 50 mm (mit Ausrichtung der Seiten parallel oder nicht parallel zu den Linien der Gitterstruktur (c)) um höchstens 0.1° (als Abweichung von einem Mittelwert) variiert.

Eine Vielzahl makroskopischer Änderungen der äusseren Bedingungen hat einen Einfluss auf die besagten Resonanzbedingungen. Beispielsweise ändern sich die Brechungsindices der optisch transparenten Schichten (a) und (b) sowie mit der Gitter-Wellenleiter-Struktur in Kontakt gebrachter Proben bei Änderungen der Temperatur. Es wird daher bevorzugt, dass die Temperatur einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur durch geeignete Vorkehrungen konstant gehalten oder in kontrollierter Weise verändert und eingestellt werden kann.

Mit der erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur kann das Ausmass der Erfüllung der Resonanzbedingung zur Lichteinkopplung auf verschiedene Weise bestimmt werden. Ein Gegenstand der Erfindung ist eine Ausführungsform einer Gitter-Wellenleiter-Struktur, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu den Messbereichen aus der Intensität des, im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht, wieder ausgekoppelten Anregungslichts (d.h. aus der Summe beider Anteile) bestimmt wird.

Eine andere Ausführungsform ist dadurch gekennzeichnet, dass der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu den Messbereichen aus der Intensität des transmittierten Anregungslichts bestimmt wird.

Eine weitere Ausführungsform ist dadurch gekennzeichnet, dass der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu den Messbereichen aus der Intensität des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht bestimmt wird.

Die erfindungsgemässe Gitter-Wellenleiter-Struktur ist dadurch gekennzeichnet, dass die Summe der Intensitäten des reflektierten und des im wesentlichen parallel dazu wieder ausgekoppelten Anregungslichts bei lokaler Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) im Bereich dieses Messbereichs ein Maximum aufweist. In der Praxis können dabei das an ein- und demselben Messbereich ausgekoppelte und das dort reflektierte Anregungslicht nicht voneinander unterschieden werden, da sich beide vom selben Ort in derselben Richtung ausbreiten.

Gleichzeitig weist die Intensität des transmittierten Anregungslichts bei lokaler Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) im Bereich dieses Messbereichs ein Minimum auf. Ausserdem weist die Intensität des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht bei lokaler Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) im Bereich dieses Messbereichs ein Maximum auf.

Die Höhe der Ausbreitungsverluste eines in einer optisch wellenleitenden Schicht (a) geführten Modes wird in hohem Masse von der Oberflächenrauigkeit einer darunter liegenden Trägerschicht sowie von Absorption durch möglicherweise in dieser Trägerschicht vorhandene Chromophoren bestimmt, was zusätzlich das Risiko der Anregung von für viele Anwendungen unerwünschter Lumineszenz in dieser Trägerschicht, durch Eindringen des evaneszenten Feldes des in der Schicht (a) geführten Modes, in sich birgt. Weiterhin kann es zum Auftreten thermischer Spannungen infolge unterschiedlicher thermischer Ausdehnungskoeffizienten der optisch transparenten Schichten (a) und (b) kommen. Im Falle einer chemisch empfindlichen optisch transparenten Schicht (b), sofern sie beispielsweise aus einem transparenten thermoplastischen Kunststoff besteht, ist es wünschenswert, ein Eindringen von Lösungsmitteln, welche die Schicht (b) angreifen könnten, durch eventuell in der optisch transparenten Schicht (a) vorhandene Mikroporen zu verhindern.

Daher ist es von Vorteil, wenn sich zwischen den optisch transparenten Schichten (a) und (b) und in Kontakt mit Schicht (a) eine weitere optisch transparente Schicht (b') mit niedrigerem Brechungsindex als dem der Schicht (a) und einer Stärke von 5 nm – 10 000 nm, vorzugsweise von 10 nm - 1000 nm, befindet. Die Zwischenschicht hat die Aufgabe einer Verringerung der Oberflächenrauigkeit unter der Schicht (a) oder der Verminderung des Eindringens des evaneszenten Feldes von in Schicht (a) geführtem Licht in die eine oder mehrere darunter liegende Schichten oder einer Verbesserung der Haftung der Schicht (a) auf der einen oder mehreren darunter liegenden Schichten oder der Verminderung von thermisch hervorgerufenen Spannungen innerhalb der Gitter-Wellenleiter-Struktur oder der chemischen Isolation der optisch transparenten Schicht (a) von darunter liegenden Schichten mittels Abdichten von Mikroporen in der Schicht (a) gegen darunter liegende Schichten.



Die Gitterstruktur (c) der erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur kann ein diffraktives Gitter mit einer einheitlichen Periode oder ein multidiffraktives Gitter sein. Es ist auch möglich, dass die Gitterstruktur (c) eine senkrecht oder parallel zur Ausbreitungsrichtung des in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelten Anregungslichts räumlich variierende Periodizität aufweist.

Es wird bevorzugt, dass das Material der zweiten optisch transparenten Schicht (b) der erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur aus Glas, Quarz oder einem transparenten thermoplastischen oder spritzbaren Kunststoff, beispielsweise aus der Gruppe besteht, die von Polycarbonat, Polyimid oder Polymethylmethacrylat gebildet wird.

Es wird weiterhin bevorzugt, dass der Brechungsindex der ersten optisch transparenten Schicht (a) grösser als 1.8 ist. Für die optische Schicht (a) sind eine Vielzahl von Materialien geeignet. Ohne Einschränkung der Allgemeinheit wird bevorzugt, dass die erste optisch transparente Schicht (a) ein Material aus der Gruppe von  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ,  $\text{Ta}_2\text{O}_5$ ,  $\text{HfO}_2$ , oder  $\text{ZrO}_2$ , besonders bevorzugt aus  $\text{TiO}_2$  oder  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  oder  $\text{Ta}_2\text{O}_5$ , umfasst.

Neben dem Brechungsindex der wellenleitenden optisch transparenten Schicht (a) ist deren Dicke der zweite massgebliche Parameter zur Erzeugung eines möglichst starken evaneszenten Feldes an deren Grenzflächen zu benachbarten Schichten mit niedrigerem Brechungsindex sowie einer möglichst hohen Energiedichte innerhalb der Schicht (a). Dabei nimmt die Stärke des evaneszenten Feldes mit abnehmender Dicke der wellenleitenden Schicht (a) zu, solange die Schichtdicke ausreicht, um mindestens einen Mode der Anregungswellenlänge zu führen. Dabei ist die minimale "Cut-off"-Schichtdicke zur Führung eines Modes abhängig von der Wellenlänge dieses Modes. Sie ist für längerwelliges Licht grösser als für kurzwelliges Licht. Mit Annäherung an die "Cut-off"-Schichtdicke nehmen allerdings auch ungewünschte Ausbreitungsverluste stark zu, was die Auswahl der bevorzugten Schichtdicke zusätzlich nach unten begrenzt. Bevorzugt sind solche Schichtdicken der optisch transparenten Schicht (a), welche nur die Führung von 1 bis 3 Moden einer vorgegebenen Anregungswellenlänge ermöglichen, ganz besonders bevorzugt sind Schichtdicken, welche zu monomodalen Wellenleitern für diese Anregungswellenlänge führen. Dabei ist klar, dass sich der diskrete Modencharakter des geführten Lichts nur auf die transversalen Moden bezieht.

Diese Anforderungen führen dazu, dass vorteilhaft das Produkt aus der Dicke der Schicht (a) und ihrem Brechungsindex ein Zehntel bis ein Ganzes, bevorzugt ein Drittel bis zwei Drittel, der Anregungswellenlänge eines in die Schicht (a) einzukoppelnden Anregungslichts beträgt.

Bei vorgegebenen Brechungsindices der wellenleitenden, optisch transparenten Schicht (a) und der benachbarten Schichten ist der Resonanzwinkel für die Einkopplung des Anregungslichts entsprechend der oben genannten Resonanzbedingung abhängig von der einzukoppelnden Beugungsordnung, der Anregungswellenlänge sowie der Gitterperiode. Zur Erhöhung der Einkoppeleffizienz ist die Einkopplung der ersten Beugungsordnung vorteilhaft. Neben der Höhe der Beugungsordnung ist für die Höhe der Einkoppeleffizienz die Gittertiefe massgeblich. Prinzipiell vergrößert sich die Koppeleffizienz mit steigender Gittertiefe. Da der Prozess der Auskopplung völlig reziprok zur Einkopplung erfolgt, erhöht sich jedoch zugleich auch die Auskoppeleffizienz, so dass es, in Abhängigkeit von der Geometrie der Messbereiche und der eingestrahnten Anregungslichtbündel, ein Optimum gibt. Aufgrund dieser Randbedingungen ist es von Vorteil, wenn das Gitter (c) eine Periode von 200 nm – 1000 nm aufweist und die Modulationstiefe des Gitters (c) 3 bis 100 nm, bevorzugt 10 bis 30 nm beträgt.

Weiterhin wird bevorzugt, dass das Verhältnis von Modulationstiefe zur Dicke der ersten optisch transparenten Schicht (a) gleich oder kleiner als 0.2 ist.

Neben den bereits genannten Parametern wirkt sich auch das sogenannte „Steg-zu-Nut-Verhältnis“ auf die Ein- und Auskoppeleffizienz aus. Unter Steg-zu-Nut -Verhältnis ist zum Beispiel bei einem Rechteckgitter das Verhältnis der Breite der Stege zu der Breite der Nuten zu verstehen. Bevorzugt weisen die Gitter ein Steg-zu-Nut-Verhältnis von 0.5 - 2 auf.

Dabei kann die Gitterstruktur (c) ein Reliefgitter mit Rechteck-, Dreieck- oder halbkreisförmigem Profil oder ein Phasen- oder Volumengitter mit einer periodischen Modulation des Brechungsindex in der im wesentlichen planaren optisch transparenten Schicht (a) sein.

Weiterhin kann es von Vorteil sein, wenn auf der Gitter-Wellenleiter-Struktur optisch oder mechanisch erkennbare Markierungen zur Erleichterung der Justierung in einem optischen

System und / oder zur Verbindung mit Probenbehältnissen als Teil eines analytischen Systems aufgebracht sind.

Die erfindungsgemässe Gitter-Wellenleiter-Struktur eignet sich insbesondere für den Einsatz in der biochemischen Analytik, zum hochempfindlichen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren zugeführten Proben. Die nachfolgende Gruppe von Bevorzugungen ist besonders auf dieses Einsatzgebiet ausgerichtet. Für diese Anwendungen werden biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungskennungs-elemente zur Erkennung und Bindung nachzuweisender Analyten auf der Gitter-Wellenleiter-Struktur immobilisiert. Dieses kann grossflächig, eventuell über der gesamten Struktur, oder in diskreten sogenannten Messbereichen geschehen.

Im Sinne der vorliegenden Erfindung sollen räumlich getrennte Messbereiche (d) durch die Fläche definiert werden, die dort immobilisierte biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselementen zur Erkennung eines oder mehrerer Analyten aus einer flüssigen Probe einnehmen. Diese Flächen können dabei eine beliebige Geometrie, beispielsweise die Form von Punkten, Kreisen, Rechtecken, Dreiecken, Ellipsen oder Linien, haben. Es ist möglich, dass in einer 2-dimensionalen Anordnung bis zu 1 000 000 Messbereiche auf einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur angeordnet sind, wobei ein einzelner Messbereich beispielsweise eine Fläche von  $0.001 \text{ mm}^2 - 6 \text{ mm}^2$  einnehmen kann. Typischerweise kann dabei die Dichte von Messbereichen auf einer gemeinsamen Gitterstruktur (c) mehr als 10, bevorzugt mehr als 100, besonders bevorzugt mehr als 1000 Messbereiche pro Quadratzentimeter betragen.

Ausserdem wird bevorzugt, dass die Aussenmasse ihrer Grundfläche mit der Grundfläche von Standard-Mikrotiter-Platten von ca. 8 cm x 12 cm (mit 96 oder 384 oder 1536 Wells) übereinstimmen.

Es gibt eine Vielzahl von Methoden zur Aufbringung der biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen auf die optisch transparente Schicht (a). Beispielsweise kann dieses durch physikalische Adsorption oder durch elektrostatische Wechselwirkung erfolgen. Die Orientierung der Erkennungselemente ist dann im allgemeinen statistisch. Ausserdem besteht die Gefahr, dass bei unterschiedlicher Zusammensetzung der den Analyten

enthaltenden Probe oder der im Nachweisverfahren eingesetzten Reagentien ein Teil der immobilisierten Erkennungselemente fortgespült wird. Daher kann es von Vorteil sein, wenn zur Immobilisierung biologischer oder biochemischer oder synthetischer Erkennungselemente (e) auf der optisch transparenten Schicht (a) eine Haftvermittlungsschicht (f) aufgebracht ist. Diese Haftvermittlungsschicht sollte ebenfalls optisch transparent sein. Insbesondere sollte die Haftvermittlungsschicht nicht über die Eindringtiefe des evaneszenten Feldes aus der wellenleitenden Schicht (a) in das darüber liegende Medium hinausragen. Daher sollte die Haftvermittlungsschicht (f) eine Stärke von weniger als 200 nm, vorzugsweise von weniger als 20 nm, haben. Sie kann beispielsweise chemische Verbindungen aus der Gruppe Silane, Epoxide, funktionalisierte, geladene oder polare Polymere und "selbstorganisierte funktionalisierte Monoschichten" umfassen.

Zur Aufbringung der biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen können eines oder mehrere Verfahren verwendet werden aus der Gruppe von Verfahren, die von "Ink jet spotting, mechanischem Spotting, micro contact printing, fluidische Kontaktierung der Messbereiche mit den biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen durch deren Zufuhr in parallelen oder gekreuzten Mikrokanälen, unter Einwirkung von Druckunterschieden oder elektrischen oder elektromagnetischen Potentialen", gebildet werden.

Als biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselementen können Komponenten aus der Gruppe aufgebracht werden, die von Nukleinsäuren (beispielsweise DNA, RNA, Oligonukleotiden), Nukleinsäureanalogen (z. B. PNA), Antikörpern, Aptameren, membran-gebundenen und isolierten Rezeptoren, deren Liganden, Antigene für Antikörper, "Histidin-Tag-Komponenten", durch chemische Synthese erzeugte Kavitäten zur Aufnahme molekularer Imprints, etc. gebildet wird.

Unter der letztgenannten Art von Erkennungselementen sind Kavitäten zu verstehen, die in einem Verfahren hergestellt werden, welches als "molecular imprinting" in der Literatur beschrieben wurde. Dazu wird, meistens in organischer Lösung, der Analyt oder ein Analogon des Analyten, in einer Polymerenstruktur eingekapselt. Man bezeichnet ihn dann als "Imprint". Dann wird der Analyt oder sein Analogon unter Zugabe geeigneter Reagentien aus der Polymerenstruktur wieder herausgelöst, so dass er dort eine leere Kavität zurücklässt. Diese

leere Kavität kann dann als eine Bindungsstelle mit hoher sterischer Selektivität in einem späteren Nachweisverfahren eingesetzt werden.

Es ist auch möglich, dass als biochemische oder biologische Erkennungselemente ganze Zellen oder Zellfragmente aufgebracht werden.

In vielen Fällen wird die Nachweisgrenze eines analytischen Verfahrens limitiert durch Signale sogenannter unspezifischer Bindung, d. h. durch Signale, welche durch Bindung des Analyten oder anderer zum Nachweis des Analyten eingesetzter Verbindungen erzeugt werden, welche nicht nur im Bereich der eingesetzten immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen, sondern auch in davon unbedeckten Bereichen einer Gitter-Wellenleiter-Struktur gebunden werden, beispielsweise durch hydrophobe Adsorption oder durch elektrostatische Wechselwirkungen. Daher ist es von Vorteil, wenn zwischen den räumlich getrennten Messbereichen (d) gegenüber dem Analyten "chemisch neutrale" Verbindungen zur Verminderung unspezifischer Bindung oder Adsorption aufgebracht sind. Als "chemisch neutrale" Verbindungen werden dabei solche Stoffe bezeichnet, welche selbst keine spezifischen Bindungsstellen zur Erkennung und Bindung des Analyten oder eines Analogen des Analyten oder eines weiteren Bindungspartners in einem mehrstufigen Assay aufweisen und durch ihre Anwesenheit den Zugang des Analyten oder seines Analogen oder der weiteren Bindungspartner zur Oberfläche der Gitter-Wellenleiter-Struktur blockieren.

Als "chemisch neutrale" Verbindungen können beispielsweise Stoffe aus den Gruppen eingesetzt werden, die von Albuminen, insbesondere Rinderserumalbumin oder Humanserumalbumin, nicht mit zu analysierenden Polynukleotiden hybridisierender, fragmentierter natürlicher oder synthetischer DNA, wie beispielsweise Herings- oder Lachssperma, oder auch ungeladenen, aber hydrophilen Polymeren, wie beispielsweise Polyethylenglycole oder Dextrane, gebildet werden.

Insbesondere die Auswahl der genannten Stoffe zur Verminderung unspezifischer Hybridisierung in Polynukleotid-Hybridisierungsassays (wie Herings- oder Lachssperma) wird dabei durch die empirische Bevorzugung von für die zu analysierenden Polynukleotide "artfremder" DNA bestimmt, über die keine Wechselwirkungen mit den nachzuweisenden Polynukleotidsequenzen bekannt sind.

Weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer Anregungslichtquelle
- einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einer der vorgenannten Ausführungsformen
- mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht.

Insbesondere im Falle der vorgenannten Ausführungsform der Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts kann es vorteilhaft sein, wenn die von der wellenleitenden Schicht (a) abgewandte Oberfläche der optisch transparenten Schicht (b), d.h. die, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegende Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, mit einer Antireflexionsbeschichtung versehen ist. Hiermit können mögliche Störreflexionen und Interferenzerscheinungen, beispielsweise infolge von Fresnel-Reflexionen, welche unabhängig von den zu erfassenden Messsignalen auftreten können, vermindert werden.

Die aufgeführten Randbedingungen an die Positionierung des mindestens einen ortsauflösenden Detektors auf der gleichen oder gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts und in Abhängigkeit des zu erfassenden Lichtanteils (transmittiertes Anregungslicht oder, parallel zum reflektierten Anteil wieder ausgekoppeltem Anregungslicht) können vereinfacht werden durch die Verwendung einer geeignet im Strahlengang zu positionierenden Projektionswand. Eine geeignete Projektionswand sollte diffus reflektierend oder / und diffus transmissiv sein. Eine wesentliche Rolle bei der Materialauswahl spielt dabei die Körnigkeit des Materials, insbesondere seiner Oberfläche. Eine

zu grobe Körnigkeit führt zur Verminderung der Kontraste und zur Erzeugung vergrößerter, unscharfer Konturen, d.h. zu einer Verminderung der Ortsauflösung und der Empfindlichkeit. In gleicher, nachteiliger Weise wirkt sich eine zu grosse Lauflänge des Lichts im Material (z.B. in einem Teflon-Block) aus. In der Praxis erweist sich beispielsweise ein Stück feinkörnigen, weissen Papiers als eine gut geeignete diffus reflektierende Projektionswand, welches, zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts, welches auf der gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, zu positionieren ist. In diesem Beispiel ist der mindestens eine ortsauflösende Detektor auf der gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, angeordnet. Bei Verwendung einer diffus transmissiven Projektionswand kann der Detektor auf beiden Seiten der Gitter-Wellenleiter-Struktur angeordnet sein.

Eine solche Projektionswand kann auch vorteilhaft zur Erfassung des, im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts eingesetzt werden. Während, ohne Verwendung einer solchen Projektionswand, ein ortsauflösender Detektor genau in der Ausbreitungsrichtung dieses Lichtanteils positioniert werden muss, was aufgrund der räumlichen Abmessungen eines solchen Detektors zu Schwierigkeiten in der praktischen Realisierung führen kann, entfallen diese Anforderungen bei Verwendung einer besagten Projektionswand.

Es wurde überraschend gefunden, dass unter Verwendung einer Projektionswand zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts auf der gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, ein besonders guter Kontrast bei der Bestimmung des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingungen zur Lichteinkopplung in die erfindungsgemässe Gitter-Wellenleiter-Struktur, erzielt werden konnte, beispielsweise im Vergleich zu der Alternative der Erfassung des Streulichts von in der Schicht (a) geführtem Licht. Beispielsweise kann mit dieser Anordnung die nachteilige Kontrastverminderung von Streulicht infolge Auskopplung geführten Anregungslichts durch Oberflächendefekte der Gitter-Wellenleiter-Struktur nahezu vollständig vermieden werden. Ein weiterer Vorteil dieser Anordnung besteht darin, dass bei Verwendung eines weitgehend parallelen Anregungslichtbündels der Abstand der Projektionswand von der Gitter-Wellenleiter-Struktur in einem weiten Bereich ohne wesentliche Beeinträchtigung der Empfindlichkeit und / oder der Ortsauflösung variiert werden kann. Beispielsweise kann auch die der wellenleitenden Schicht

(a) einer Gitter-Wellenleiter-Struktur gegenüberliegende Seite eines geeigneten Probenbehältnisses, mit der Gitter-Wellenleiter-Struktur als gegenüberliegender Begrenzungswand, als Projektionswand ausgebildet sein.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher ein optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer Anregungslichtquelle
- einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur
- einer diffus reflektierenden oder / und diffus transmissiven Projektionswand auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, zur Erzeugung eines Bildes des transmittierten Anregungslichts

und mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des Bildes des transmittierten Anregungslichts auf besagter Projektionwand.

Eine mögliche Ausführungsform ist dadurch gekennzeichnet, dass der mindestens eine ortsauflösende Detektor zur Erfassung des Bildes des transmittierten Anregungslichts auf besagter Projektionswand auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur angeordnet ist.

Eine andere mögliche Variante ist dadurch gekennzeichnet, dass der mindestens eine ortsauflösende Detektor zur Erfassung des Bildes des transmittierten Anregungslichts auf besagter Projektionswand auf der Seite des transmittierten Anregungslichts, d.h. auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, angeordnet ist, wobei besagte Projektionswand mindestens teilweise transmissiv ist.

Für spezifische Anwendungen wird eine Ausführungsform eines optischen Systems mit einer Gitter-Wellenleiter-Struktur mit einer oder mehreren Gitterstrukturen (c) mit einer im wesentlichen senkrecht zur Ausbreitungsrichtung des in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelten Anregungslichts räumlich variierenden Periodizität bevorzugt, welche dadurch



gekennzeichnet ist, dass auf jeder Gitterstruktur (c) mit einer im wesentlichen senkrecht zur Ausbreitungsrichtung des in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelten Anregungslichts räumlich variierenden Periodizität höchstens ein Messbereich angeordnet ist, wobei sich auf der Gitter-Wellenleiter-Struktur in Ausbreitungsrichtung des einzukoppelnden und in der Schicht (a) zu führenden Anregungslichts ein unstrukturierter Bereich der Gitter-Wellenleiter-Struktur anschliesst, und gegebenenfalls daran weiter in Ausbreitungsrichtung des in der Schicht (a) geführten Anregungslichts sich eine weitere Gitterstruktur (c) anschliesst, über welche besagtes geführtes Anregungslicht in Richtung eines ortsauflösenden Detektors wieder ausgekoppelt wird. Eine solche Ausführungsform kann so gestaltet sein, dass Änderungen der Massenbelegung, oder allgemeiner des lokalen effektiven Brechungsindex, durch Adsorption oder Desorption von Molekülen aus den Messbereichen auf Gitterstrukturen (c) zu einer Verschiebung der lokalen Position der Erfüllung der Resonanzbedingung zur Einkopplung des Anregungslichts in die Schicht (a) über besagte Gitterstruktur (c) im wesentlichen parallel zu den Gitterlinien führen. Dabei wird eine solche Ausführungsform des erfindungsgemässen optischen Systems bevorzugt, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass eine eindimensionale Anordnung von mindestens 2 Gitterstrukturen (c) der eben genannten Ausführungsform gleichzeitig mit Anregungslicht bestrahlt wird. Weiterhin wird bevorzugt, dass das Anregungslicht im wesentlichen parallel eingestrahlt wird und im wesentlichen monochromatisch ist. Insbesondere ist es vorteilhaft, wenn das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung eines in der Schicht (a) geführten  $TE_0$ - oder  $TM_0$ -Modes. Vorteilhaft wird jeweils eine grössere Anzahl von derartigen Gitterstrukturen gleichzeitig bestrahlt, beispielsweise eine zweidimensionale Anordnung von mindestens 4 derartigen Gitterstrukturen.

Bei gegebenen Schicht- und Gitterparametern einer Gitter-Wellenleiter-Struktur gibt es verschiedene Möglichkeiten, die übrigen freien Parameter zur Erfüllung der Resonanzbedingungen von Licht in oder Auskopplung von Licht aus einer Gitter-Wellenleiter-Struktur zu variieren. Für eine vorgegebene, feststehende Wellenlänge gibt es beispielsweise im Falle einer ausreichend dünnen wellenleitenden Schicht (a), welche nur monomodale Wellenleitung zulässt ( $TM_0$  oder  $TE_0$ ) jeweils nur einen wohldefinierten Winkel (bezogen auf eine zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur orthogonale Ebene, parallel zu den Gitterlinien), unter dem die Resonanzbedingung erfüllt wird, mit einer nur geringen, in hohem Masse von der Gittertiefe abhängigen Breite der zugehörigen Resonanzkurve. Die Veränderung des

Einstrahlwinkels eines Anregungslichts auf eine Gitter-Wellenleiter-Struktur ist daher ein möglicher Parameter zur Bestimmung der Resonanzbedingungen.

Weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher ein optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem zweidimensionalen Array aus mindestens vier oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer Anregungslichtquelle
- einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur
- einem Positionierelement zur Veränderung des Einstrahlwinkels des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur
- mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht.

Wie bereits früher aufgeführt, können die aufgeführten Randbedingungen an die Positionierung des mindestens einen ortsauflösenden Detektors auf der gleichen oder gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts und in Abhängigkeit des zu erfassenden Lichtanteils (transmittiertes Anregungslicht oder, parallel zum reflektierten Anteil wieder ausgekoppeltem Anregungslicht) vereinfacht werden durch die Verwendung einer geeignet im Strahlengang zu positionierenden Projektionswand.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist damit ein optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem zweidimensionalen Array aus mindestens vier oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer Anregungslichtquelle

- einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur
- einem Positionierelement zur Veränderung des Einstrahlwinkels des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur
- einer diffus reflektierenden oder / und diffus transmissiven Projektionswand auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, zur Erzeugung eines Bildes des transmittierten Anregungslichts

und mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des Bildes des transmittierten Anregungslichts auf besagter Projektionswand.

Vielfach möchte man in einem möglichst wartungsarmen System die Verwendung mechanisch beweglicher Teile vermeiden, da diese oft einen vergleichsweise hohen Verschleiss aufweisen. Ausserdem ist die erforderliche Zeit für eine hoch genaue mechanische Positionierung nicht vernachlässigbar. Bei vorgegebenen Systemparametern, mit einem festen vorgegebenen Einstrahlwinkel eines Anregungslichts auf eine Gitter-Wellenleiter-Struktur, welcher vorzugsweise nahe zu einem geeigneten Winkel zur Erfüllung der Resonanzbedingungen eingestellt ist, bietet sich als Alternative eine Variation der eingestrahnten Anregungswellenlänge an.

Eine bevorzugte Ausführungsform besteht in einem optischen System zur ortsaufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer über einen gewissen Spektralbereich durchstimmbaren Anregungslichtquelle
- einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einer der vorgenannten Ausführungsformen
- mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur

Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht.

In Abhängigkeit von den jeweiligen Parametern einer Gitter-Wellenleiter-Struktur ergibt sich eine für eine bestimmte Struktur wohldefinierte Äquivalenz einer Änderung des Koppelwinkels oder der Wellenlänge eines eingestrahltten Anregungslichts. Beispielsweise kann für eine Gitter-Wellenleiter-Struktur von etwa 150 nm Tantalpentoxid ( $n = 2.15$  bei 633 nm auf Glas ( $n = 1.52$  bei 633 nm) mit einer Gitterstruktur von 320 nm Periode (Gittertiefe typischerweise 10 nm – 20 nm) eine Änderung des Koppelwinkels um  $0.2^\circ$  einer Änderung einer einzukoppelnden Wellenlänge um 1 nm für einzukoppelndes transversal elektrisch polarisiertes Licht entsprechen. Für eine solche Struktur ist die resultierende Änderung des Koppelwinkels bei Aufbringung einer vollständigen Protein-Monoschicht von ähnlicher Größenordnung.

Es wird bevorzugt, dass besagte mindestens eine durchstimbare Lichtquelle über einen Spektralbereich von mindestens 1 nm durchgestimmt werden kann.

Besonders vorteilhaft ist, wenn besagte mindestens eine durchstimbare Lichtquelle über einen Spektralbereich von mindestens 5 nm durchgestimmt werden kann.

Bei besagter mindestens einen durchstimbaren Lichtquelle kann es sich beispielsweise um eine Laserdiode handeln.

Eine andere mögliche Alternative besteht darin, dass anstelle einer über einen gewissen Spektralbereich durchstimbaren monochromatischen Lichtquelle eine über den entsprechenden Spektralbereich polychromatische Lichtquelle, möglichst mit einem innerhalb dieses Bereichs kontinuierlichen Spektrum, verwendet wird. Einerseits ist es möglich, durch Kombination einer solchen polychromatischen Lichtquelle mit einer spektral hochauflösenden optischen Komponente im Anregungsstrahlengang wiederum ein nahezu monochromatisches, durchstimbbares Anregungslicht zu erzeugen, welches in entsprechender Weise wie die vorgenannte Variante verwendet werden kann. Es ist jedoch auch möglich, das polychromatische Licht des besagten Spektralbereichs gleichzeitig auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur einzustrahlen.

Weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher eine Ausführungsform eines optischen Systems zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer in einem gewissen Spektralbereich polychromatischen Anregungslichtquelle .
- einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einer der vorgenannten Ausführungsformen
- mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht.

Es wird wiederum bevorzugt, dass besagte mindestens eine polychromatische Lichtquelle eine Emissionsbandbreite von mindestens 1 nm aufweist. Besonders vorteilhaft ist, wenn besagte mindestens eine polychromatische Lichtquelle eine Emissionsbandbreite von mindestens 5 nm hat.

Es ergeben sich verschiedene mögliche Varianten eines Messverfahrens basierend auf einem derartigen erfindungsgemässen optischen System mit einer polychromatischen Lichtquelle, welche weiter unten beschrieben sind.

Es wird eine solche Ausführungsform eines erfindungsgemässen optischen Systems mit einer polychromatischen Lichtquelle bevorzugt, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass im Strahlengang zwischen der Gitter-Wellenleiter-Struktur und dem mindestens einen ortsauflösenden Detektor eine spektral selektive optische Komponente mit hoher spektraler Auflösung in besagtem gewissen Spektralbereich angeordnet ist. Dabei ist es vorteilhaft, wenn besagte spektral selektive Komponente geeignet ist zur Erzeugung von spektral selektiven, orts aufgelösten, zweidimensionalen Darstellungen der Intensitätsverteilungen des von der

Gitter-Wellenleiter-Struktur ausgehenden Messlichts bei unterschiedlichen Wellenlängen innerhalb besagten gewissen Spektralbereichs.

Besonders bevorzugt ist eine solche Ausführungsform eines erfindungsgemässen optischen Systems mit einer innerhalb eines gewissen Spektralbereichs polychromatischen Lichtquelle, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, von besagter polychromatischer Lichtquelle im Bereich der Messbereiche, durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mittels innerhalb des besagten gewissen Spektralbereichs spektral selektiver Detektion unter Verwendung mindestens eines ortsauflösenden Detektors, vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, erfolgt.

Für viele Ausführungsformen des erfindungsgemässen optischen Systems wird bevorzugt, dass das Anregungslicht im wesentlichen parallel eingestrahlt wird. Unter einem „im wesentlichen parallelen“ Lichtbündel soll dabei verstanden werden, dass dessen Konvergenz oder Divergenz weniger als  $1^\circ$  beträgt. Entsprechend soll „im wesentlichen orthogonal“ oder „im wesentlichen normal“ eine Abweichung von einer entsprechenden orthogonalen bzw. normalen Ausrichtung von weniger als  $1^\circ$  bedeuten.

Für die meisten Ausführungsformen (mit Ausnahme derjenigen, welche auf einer polychromatischen Lichtquelle beruhen) wird ausserdem bevorzugt, dass das Anregungslicht im wesentlichen monochromatisch eingestrahlt wird. Unter einem „im wesentlichen monochromatischen“ Anregungslicht soll dabei verstanden werden, dass seine spektrale Bandbreite weniger als 1 nm beträgt.

Weiterhin wird bevorzugt, dass das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung eines in der Schicht (a) geführten  $TE_0$ - oder  $TM_0$ -Modes.

Insbesondere Gegenstand der Erfindung ist eine solche Ausführungsform eines optischen Systems, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, im Bereich der Messbereiche durch sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren unter Veränderung des Einstrahlwinkels des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur erfolgt.

Neben der bereits vorgenannten Möglichkeit der Veränderung des Einstrahlwinkels mithilfe eines Positionierelements, z. B. zur Ausführung einer Rotationsbewegung der Gitterstruktur bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, kann eine solche Veränderung des Einstrahlwinkels auch durch von der Gitter-Wellenleiter-Struktur entfernt, im Strahlengang befindliche optomechanische Komponenten, wie beispielsweise bewegliche Spiegel oder Prismen, erfolgen. Zur Ausführung nur sehr kleiner Winkel- bzw. Positionsänderungen sind dabei insbesondere solche Komponenten geeignet, welche durch Piezo-Aktuatoren angetrieben werden.

Eine andere bevorzugte Ausführungsform eines erfindungsgemässen optischen Systems, insbesondere zur Vermeidung mechanisch beweglicher Teile, ist dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, im Bereich der Messbereiche, durch sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren unter

Veränderung der Emissionswellenlänge einer durchstimmbaren Lichtquelle, vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, erfolgt.

Für die vorgenannten Ausführungsformen erfindungsgemässer optischer Systeme wird bevorzugt, dass das Anregungslicht von mindestens einer Lichtquelle mit einer Aufweitungsoptik möglichst homogen zu einem im wesentlichen parallelen Strahlenbündel aufgeweitet wird und auf die einen oder mehreren Messbereiche eingestrahlt wird. Von Vorteil ist, wenn der Durchmesser des eingestrahlten Anregungslichtbündels mindestens in einer Dimension mindestens 2 mm, bevorzugt mindestens 10 mm beträgt.

Eine andere bevorzugte Ausführungsform ist dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von der mindestens einen Lichtquelle durch ein oder, im Falle mehrerer Lichtquellen, gegebenenfalls mehrere diffraktive optische Elemente, vorzugsweise Dammann-Gitter, oder refraktive optische Elemente, vorzugsweise Mikrolinsen-Arrays, in eine Vielzahl von Einzelstrahlen möglichst gleicher Intensität der von einer gemeinsamen Lichtquelle stammenden Teilstrahlen zerlegt wird, welche jeweils im wesentlichen parallel zueinander auf Gitterstrukturen (c) unter dem Resonanzwinkel zur Einkopplung in die Schicht (a) eingestrahlt werden.

Eine andere Ausführungsform eines erfindungsgemässen optischen Systems ist dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer, vorzugsweise monochromatischen Lichtquelle mit einer Strahlformungsoptik zu einem Strahlenbündel möglichst homogener Intensität und spaltförmigen Querschnitts (in einer Ebene senkrecht zur optischen Achse des Strahlenganges) aufgeweitet wird, dessen Hauptachse parallel zu den Gitterlinien ausgerichtet ist, wobei die Teilstrahlen besagten Strahlenbündels in einer Projektionsebene parallel zu der Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur im wesentlichen parallel zueinander sind, während besagtes Strahlenbündel in einer zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur orthogonalen Ebene eine Konvergenz oder Divergenz mit einem gewissen Konvergenz- bzw. Divergenzwinkels aufweist.

Dabei wird bevorzugt, dass besagter Konvergenz- oder Divergenzwinkel besagten Strahlenbündels in einer zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur orthogonalen Ebene einen Wert von bis zu 5° aufweist.



Besonders bevorzugt wird, dass besagter Konvergenz- oder Divergenzwinkel besagten Strahlenbündels in einer zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur orthogonalen Ebene einen Wert von bis zu  $1^\circ$  aufweist.

Ein derartiges erfindungsgemässes optisches System ist dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, im Bereich der Messbereiche, innerhalb eines spaltförmig beleuchteten Bereichs nach obiger Ausführungsform durch gleichzeitige Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch gleichzeitige Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch gleichzeitige Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren erfolgt, wobei sich die lokale Änderung der Resonanzbedingungen in einem Messbereich in einer Verschiebung des Maximums des von besagtem Messbereich im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht ausgehenden Lichts sowie des Maximums des von besagtem Messbereich nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht ausgehenden Streulichts und des Minimums des im Bereich besagten Messbereichs transmittierten Lichts (jeweils bei Erfüllung der Resonanzbedingungen in besagtem Messbereich) zeigt, wobei besagte Verschiebung des Minimums bzw. Maximums in einer Ebene parallel zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur senkrecht zu den Gitterlinien erfolgt.

Ein derartiges optisches System ist ausserdem dadurch gekennzeichnet, dass aus der Grösse besagter Verschiebung des Minimums bzw. Maximums das Ausmass der Änderungen besagter Resonanzbedingungen und damit der Änderungen des effektiven Brechungsindex im Bereich des besagten Messbereichs bestimmt werden kann.

Für bestimmte Anwendungen wird bevorzugt, dass als Anregungslichtquellen zwei oder mehr kohärente Lichtquellen mit gleicher oder unterschiedlicher Emissionswellenlänge verwendet werden.

Für solche Anwendungen, in denen zwei oder mehr unterschiedliche Anregungswellenlängen eingesetzt werden sollen, wird eine solche Ausführungsform des optisches System bevorzugt, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass das Anregungslicht von 2 oder mehr Lichtquellen gleichzeitig oder sequentiell aus verschiedenen Richtungen auf eine Gitterstruktur (c) eingestrahlt und über diese in die Schicht (a) der Gitter-Wellenleiter-Struktur eingekoppelt wird, welche eine Überlagerung von Gitterstrukturen mit unterschiedlicher Periodizität umfasst.

Es wird bevorzugt, dass zur Detektion mindestens ein ortsauflösender Detektor verwendet wird, beispielsweise aus der Gruppe, die von CCD-Kameras, CCD-Chips, Photodioden-Arrays, Avalanche-Dioden-Arrays, Multichannelplates und Vielkanal-Photomultiplier gebildet wird.

Gemäss dieser Erfindung umfasst das optische System solche Ausführungsformen, welche, dadurch gekennzeichnet sind, dass zwischen der einen oder mehreren Anregungslichtquellen und der erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur und /oder zwischen besagter Gitter-Wellenleiter-Struktur und dem einen oder mehreren Detektoren optische Komponenten aus der Gruppe verwendet werden, die von Linsen oder Linsensystemen zur Formgestaltung der übertragenen Lichtbündel, planaren oder gekrümmten Spiegeln zur Umlenkung und gegebenenfalls zusätzlich zur Formgestaltung von Lichtbündeln, Prismen zur Umlenkung und gegebenenfalls zur spektralen Aufteilung von Lichtbündeln, dichroischen Spiegeln zur spektral selektiven Umlenkung von Teilen von Lichtbündeln, Neutralfiltern zur Regelung der übertragenen Lichtintensität, optischen Filtern oder Monochromatoren zur spektral selektiven Übertragung von Teilen von Lichtbündeln oder polarisationsselektiven Elementen zur Auswahl diskreter Polarisationsrichtungen des Anregungs- oder Lumineszenzlichts gebildet werden.

Es ist möglich, dass die Einstrahlung des Anregungslichts in Pulsen mit einer Dauer zwischen 1 fsec und 10 Minuten erfolgt und das Emissionslicht aus den Messbereichen zeitlich aufgelöst gemessen wird. Insbesondere kann mit einer solchen Ausführungsformen auch die Bindung einer oder mehrerer Analyten an die Erkennungselemente in den verschiedenen Messbereichen ortsauflöst in Echtzeit beobachtet werden. Aus den zeitaufgelöst aufgenommenen Signalen kann die jeweilige Bindungskinetik bestimmt werden. Insbesondere ermöglicht dieses beispielsweise den Vergleich der Affinitäten unterschiedlicher Liganden zu einem jeweiligen immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente

bestimmt werden. Dabei soll in diesem Zusammenhang als „Ligand“ ein beliebiger Bindungspartner eines solchen immobilisierten Erkennungselements bezeichnet werden.

Es ist möglich, dass die Einstrahlung des Anregungslichts auf und Detektion des Emissionslichts von einem oder mehreren Messbereichen sequentiell für einzelne oder mehrere Messbereiche erfolgt. Dieses kann insbesondere dadurch realisiert werden, dass sequentielle Anregung und Detektion unter Verwendung beweglicher optischer Komponenten erfolgt, die aus der Gruppe von Spiegeln, Umlenkprismen und dichroischen Spiegeln gebildet wird.

Bestandteil der Erfindung ist auch ein solches optisches System, welches dadurch gekennzeichnet ist, dass sequentielle Anregung und Detektion unter Verwendung eines im wesentlichen winkel- und fokusgetreuen Scanners erfolgt. Ausserdem ist es möglich, dass die Gitter-Wellenleiter-Struktur zwischen Schritten der sequentiellen Anregung und Detektion bewegt wird.

Weiterer Bestandteil der Erfindung ist ein optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in mindestens einer Probe auf einem oder mehreren Messbereichen auf einer Gitter-Wellenleiter-Struktur, mit

- einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur
- einem erfindungsgemässen optischen System nach einer der genannten Ausführungsformen sowie zusätzlich
- Zuführungsmitteln, um die eine oder mehrere Proben mit den Messbereichen auf der

Gitter-Wellenleiter-Struktur in Kontakt zu bringen.

Das um die Zuführungsmittel ergänzte optische System soll nachfolgend auch als analytisches System bezeichnet werden.

Es wird bevorzugt, dass das analytische System zusätzlich eine oder mehrere Probenbehälter umfasst, welche mindestens im Bereich der einen oder mehreren Messbereiche oder der zu

Segmenten zusammengefassten Messbereiche zur Gitter-Wellenleiter-Struktur hin geöffnet sind, wobei die Probenbehältnisse vorzugsweise jeweils ein Volumen von 0.1 nl – 100 µl haben.

Es wird daher bevorzugt, dass die Temperatur eines erfindungsgemässen analytischen Systems durch geeignete Vorkehrungen konstant gehalten oder in kontrollierter Weise verändert und eingestellt werden kann. Diese bevorzugte Möglichkeit zur Temperaturkontrolle und –regelung umfasst neben einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einer der genannten Ausführungsformen auch besagte Probenbehältnisse, deren Zuführungen bzw. Zuleitungen sowie gegebenenfalls vorhandene Vorratsbehältnisse für Proben und / oder Reagentien sowie gegebenenfalls deren Aufbewahrungsorte vor einer Applikation in dem erfindungsgemässen analytischen bzw. optischen System.

Eine mögliche Ausführungsform des erfindungsgemässen analytischen Systems besteht darin, dass die Probenbehältnisse auf der von der optisch transparenten Schicht (a) abgewandten Seite, mit Ausnahme von Ein- und / oder Auslassöffnungen für die Zufuhr oder den Auslass der Proben und gegebenenfalls zusätzlicher Reagentien, geschlossen sind und die Zufuhr oder der Auslass von Proben und gegebenenfalls zusätzlicher Reagentien in einem geschlossenen Durchflusssystem erfolgen, wobei im Falle der Flüssigkeitszufuhr zu mehreren Messbereichen oder Segmenten mit gemeinsamen Einlass- und Auslassöffnungen diese bevorzugt spalten- oder zeilenweise adressiert werden.

Eine andere mögliche Ausführungsform ist dadurch gekennzeichnet, dass die Probenbehältnisse auf der von der optisch transparenten Schicht (a) abgewandten Seite Öffnungen zur lokal adressierten Zugabe oder Entfernung der Proben oder anderer Reagentien besitzen.

Eine Weiterentwicklung des erfindungsgemässen analytischen Systems ist so gestaltet, dass Behältnisse für Reagentien vorgesehen sind, welche während des Verfahrens zum Nachweis des einen oder mehrerer Analyten benetzt und mit den Messbereichen in Kontakt gebracht werden

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben auf mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen auf einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einer der vorgenannten Ausführungsformen, mittels

Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer Anregungslichtquelle auf eine Gitterstruktur (c) mit darauf befindlichen besagten Messbereichen geleitet wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu besagten Messbereichen aus dem Signal von mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführttem Anregungslicht bestimmt wird.

Ebenfalls Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben auf mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen auf einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einer der vorgenannten Ausführungsformen in einem erfindungsgemässen optischen System, mittels Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Gitter-Wellenleiter-Struktur, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer Anregungslichtquelle auf eine Gitterstruktur (c) mit darauf befindlichen besagten Messbereichen geleitet wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu besagten Messbereichen aus dem Signal von mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführttem Anregungslicht bestimmt wird.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben auf mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen auf einer Gitter-Wellenleiter-Struktur mit einer im wesentlichen senkrecht zur Ausbreitungsrichtung des in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelten Anregungslichts räumlich variierenden Periodizität, dadurch gekennzeichnet, dass auf jeder Gitterstruktur (c) mit einer im wesentlichen senkrecht zur Ausbreitungsrichtung des in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelten Anregungslichts räumlich variierenden Periodizität höchstens ein Messbereich angeordnet ist, wobei sich auf der Gitter-Wellenleiter-Struktur in Ausbreitungsrichtung des einzukoppelnden und in der Schicht (a) zu führenden Anregungslichts ein unstrukturierter Bereich der Gitter-Wellenleiter-Struktur anschliesst, und gegebenenfalls daran weiter in Ausbreitungsrichtung des in der Schicht (a) geführten Anregungslichts sich eine weitere Gitterstruktur (c) anschliesst, über welche besagtes geführtes Anregungslicht in Richtung eines ortsauflösenden Detektors wieder ausgekoppelt wird.

Ein solches Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass Änderungen des lokalen effektiven Brechungsindex, insbesondere der Massenbelegung durch Adsorption oder Desorption von Molekülen aus den Messbereichen auf Gitterstrukturen (c), zu einer Verschiebung der lokalen Position der Erfüllung der Resonanzbedingung zur Einkopplung des Anregungslichts in die Schicht (a) über besagte Gitterstruktur (c) im wesentlichen parallel zu den Gitterlinien führen. Es wird bevorzugt, dass eine eindimensionale Anordnung von mindestens 2 derartigen Gitterstrukturen (c) gleichzeitig mit Anregungslicht bestrahlt wird. Es wird bevorzugt, dass das Anregungslicht im wesentlichen parallel eingestrahlt wird und im wesentlichen monochromatisch ist. Dabei ist von Vorteil, wenn das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung eines in der Schicht (a) geführten  $TE_0$ - oder  $TM_0$ -Modes. Besonders bevorzugt wird, wenn eine zweidimensionale Anordnung von mindestens 4 derartigen Gitterstrukturen (c) gleichzeitig mit Anregungslicht bestrahlt wird.

Insbesondere Gegenstand der Erfindung ist auch ein Verfahren zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben auf mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen auf einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur, mittels Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter mit einem zweidimensionalen

Array aus mindestens vier oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer Anregungslichtquelle auf eine Gitterstruktur (c) mit darauf befindlichen besagten Messbereichen geleitet wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu besagten Messbereichen aus dem Signal von mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht bestimmt wird und mittels eines Positionierelements der Einstrahlwinkel des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur verändert wird, so dass besagte Resonanzbedingung bei unterschiedlichen Winkeln im Bereich unterschiedlicher Messbereiche auf einer bestrahlten Gitterstruktur (c), in Abhängigkeit von deren lokaler Massenbelegung, erfüllt ist.

Bevorzugt wird ein Verfahren zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben auf mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen auf einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einer der vorgenannten Ausführungsformen, mittels Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer Anregungslichtquelle auf eine Gitterstruktur (c) mit darauf befindlichen besagten Messbereichen geleitet wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu besagten Messbereichen aus dem Signal von mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts, gegebenenfalls unter Verwendung einer diffus reflektierenden oder / und diffus transmissiven Projektionswand auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, zur Erzeugung eines Bildes des transmittierten Anregungslichts, und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des

Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht bestimmt wird und mittels eines Positionierelements der Einstrahlwinkel des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur verändert wird, so dass besagte Resonanzbedingung bei unterschiedlichen Winkeln im Bereich unterschiedlicher Messbereiche auf einer bestrahlten Gitterstruktur (c), in Abhängigkeit von dem lokalen effektiven Brechungsindex, erfüllt ist.

Wiederum wird bevorzugt, dass das Anregungslicht im wesentlichen parallel eingestrahlt wird und im wesentlichen monochromatisch ist. Besonders von Vorteil ist dabei, wenn das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung eines in der Schicht (a) geführten  $TE_0$ - oder  $TM_0$ -Modes.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens besteht darin, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) im Bereich der Messbereiche durch sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren unter Veränderung des Einstrahlwinkels des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur erfolgt.

Eine bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts im Bereich der Messbereiche durch sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren



ortsauflösenden Detektoren unter Veränderung des Einstrahlwinkels des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur erfolgt.

Dabei wird bevorzugt, dass ein Bild des transmittierten Anregungslichts auf einer diffus reflektierenden oder / und diffus transmissiven Projektionswand auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur erzeugt wird und dieses Bild mit mindestens einem ortsauflösenden Detektor erfasst wird.

Eine besonders bevorzugte Ausführungsform dieses Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass der Einstrahlwinkel des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur so eingestellt wird, dass die Resonanzbedingung zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter einer Gitter-Wellenleiter-Struktur oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Gitter-Wellenleiter-Struktur,

auf einem oder mehreren dieser Messbereiche im wesentlichen erfüllt ist, mit der Folge eines im wesentlichen maximalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht, aus dem Bereich dieser Messbereiche, und / oder eines im wesentlichen minimalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts im Bereich der Messbereiche

oder zwischen den Messbereichen im wesentlichen erfüllt ist, mit der Folge eines im wesentlichen maximalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht, aus den Bereichen zwischen diesen Messbereichen, und / oder eines im wesentlichen minimalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts aus den Bereichen zwischen diesen Messbereichen.

Sofern dabei die Unterschiede zur Erfüllung der Resonanzbedingungen auf dem mit Anregungslicht bestrahlten Bereich der Gitter-Wellenleiter-Struktur geringer als die halbe Breite

der Resonanzkurve des Koppelwinkels, unter den jeweiligen Bedingungen sind, kann dabei aus der Intensität des jeweiligen Messlichts ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dieser Intensität und dem Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung abgeleitet werden, so dass eine sequentielle Aufnahme der Resonanzkurven, beispielsweise durch Veränderung des Einstrahlwinkels auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur oder durch Veränderung der eingestrahlten Wellenlänge, nicht erforderlich ist, sondern die Information über den lokalen Grad der Erfüllung der Resonanzbedingungen und damit über den lokalen effektiven Brechungsindex mit einer einzigen Bildaufnahme gewonnen werden können.

Daher wird bevorzugt, dass lokale Unterschiede des effektiven Brechungsindex im Bereich verschiedener Messbereiche und in den Bereichen zwischen den Messbereichen aus lokalen Unterschieden der Intensitäten eines oder mehrerer ortsauflösender Detektoren, zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführttem Anregungslicht bestimmt werden, ohne dass der eingestellte Einstrahlwinkel des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur verändert wird.

Eine andere bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts von mindestens einer über einen gewissen Spektralbereich durchstimmbaren Lichtquelle im Bereich der Messbereiche durch sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführttem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren unter Veränderung der Emissionswellenlänge besagter mindestens einer durchstimmbaren Lichtquelle, vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, erfolgt.

Die Veränderung der Emissionswellenlänge einer durchstimbaren Lichtquelle zur Bestimmung lokaler Unterschiede der Resonanzbedingung, anstelle einer Veränderung des Einstrahlwinkels<sup>1</sup>, hat den benannten Vorteil der Vermeidung mechanisch beweglicher Komponenten. Diese Methode kann ausserdem den erheblichen Vorteil einer möglichen höheren Auflösung bei geringeren Systemkosten bieten: Bei typischen kommerziellen Laserdioden kann beispielsweise die emittierte Laser-Wellenlänge über den eingespeisten Betriebsstrom sehr genau kontrolliert werden. Damit kann die Erzeugung einer äusserst präzise bestimmbaren Anregungswellenlänge wesentlich kostengünstiger als eine hochauflösende Winkeleinstellung und Winkelbestimmung mit optomechanischen Komponenten sein.

Es wird bevorzugt, dass besagte mindestens eine durchstimbare Lichtquelle über einen Spektralbereich von mindestens 1 nm durchgestimmt werden kann.

Besonders vorteilhaft ist, wenn besagte mindestens eine durchstimbare Lichtquelle über einen Spektralbereich von mindestens 5 nm durchgestimmt werden kann.

Bei besagter mindestens einen durchstimbaren Lichtquelle kann es sich beispielsweise um eine Laserdiode handeln.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform des Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass ein Bild des transmittierten Anregungslichts auf einer diffus reflektierenden oder / und diffus transmissiven Projektionswand auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur erzeugt wird und dieses Bild mit mindestens einem ortsauflösenden Detektor erfasst wird.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform des Verfahrens besteht darin, dass die Emissionswellenlänge mindestens einer durchstimbaren Lichtquelle, vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, so eingestellt wird, dass die Resonanzbedingung zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter einer Gitter-Wellenleiter-Struktur oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Gitter-Wellenleiter-Struktur,

auf einem oder mehreren dieser Messbereiche im wesentlichen erfüllt ist, mit der Folge eines im wesentlichen maximalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht, aus dem Bereich dieser Messbereiche, und / oder eines im wesentlichen minimalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts im Bereich der Messbereiche oder zwischen den Messbereichen im wesentlichen erfüllt ist, mit der Folge eines im wesentlichen maximalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht, aus den Bereichen zwischen diesen Messbereichen, und / oder eines im wesentlichen minimalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts aus den Bereichen zwischen diesen Messbereichen.

Sofern dabei die Unterschiede zur Erfüllung der Resonanzbedingungen auf dem mit Anregungslicht bestrahlten Bereich der Gitter-Wellenleiter-Struktur geringer als die halbe Breite der Resonanzkurve des Koppelwellenlänge (anstelle des Koppelwinkels für den Fall konstanten Einstrahlungswinkels, aber variabler Anregungswellenlänge), unter den jeweiligen Bedingungen, sind, kann dabei wiederum aus der Intensität des jeweiligen Messlichts ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dieser Intensität und dem Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung abgeleitet werden, so dass eine sequentielle Aufnahme der Resonanzkurven, beispielsweise durch Veränderung der eingestrahlten Wellenlänge, nicht erforderlich ist, sondern die Information über den lokalen Grad der Erfüllung der Resonanzbedingungen und damit über den lokalen effektiven Brechungsindex mit einer einzigen Bildaufnahme gewonnen werden können.

Daher wird bevorzugt, dass lokale Unterschiede des effektiven Brechungsindex im Bereich verschiedener Messbereiche und in den Bereichen zwischen den Messbereichen aus lokalen Unterschieden der Intensitäten eines oder mehrerer ortsauflösender Detektoren, zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum

reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht bestimmt werden, ohne dass die Emissionswellenlänge der durchstimmbaren Lichtquelle verändert wird.

Für die vorgenannten Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens wird bevorzugt, dass das Anregungslicht jeweils im wesentlichen parallel eingestrahlt wird und im wesentlichen monochromatisch ist. Ausserdem wird bevorzugt, dass das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung eines der Schicht (a) geführten  $TE_0$ - oder  $TM_0$ -Modes.

Eine andere Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts von mindestens einer in einem gewissen Spektralbereich polychromatischen Lichtquelle im Bereich der Messbereiche durch Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren, vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, erfolgt, wobei sich jeweils in den Bereichen, in denen für eine bestimmte Wellenlänge des Anregungslichts von der polychromatischen Lichtquelle die Resonanzbedingung zur Einkopplung dieses Anregungslichts in einen Wellenleiter der Gitter-Wellenleiter-Struktur oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts dieser Wellenlänge erfüllt ist, ein maximaler Signalanteil dieser Wellenlänge am Signal eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslichts, aus dem Bereich dieser Messbereiche, und / oder ein minimaler Signalanteil dieser Wellenlänge am Signal eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts im Bereich der Messbereiche ergibt.

Es wird wiederum bevorzugt, dass besagte mindestens eine polychromatische Lichtquelle eine Emissionsbandbreite von mindestens 1 nm aufweist. Besonders vorteilhaft ist, wenn besagte mindestens eine polychromatische Lichtquelle eine Emissionsbandbreite von mindestens 5 nm hat.

Es wird eine solche Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens mit einer polychromatischen Lichtquelle bevorzugt, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass im Strahlengang zwischen der Gitter-Wellenleiter-Struktur und dem mindestens einen ortsauflösenden Detektor eine spektral selektive optische Komponente mit hoher spektraler Auflösung in besagtem gewissen Spektralbereich angeordnet ist. Dabei ist es vorteilhaft, wenn besagte spektral selektive Komponente geeignet ist zur Erzeugung von spektral selektiven, orts aufgelösten, zweidimensionalen Darstellungen der Intensitätsverteilungen des von der Gitter-Wellenleiter-Struktur ausgehenden Messlichts bei unterschiedlichen Wellenlängen innerhalb besagten gewissen Spektralbereichs.

Damit wird eine solche Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens ermöglicht, welche dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, von besagter polychromatischer Lichtquelle im Bereich der Messbereiche, durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mittels innerhalb des besagten gewissen Spektralbereichs spektral selektiver Detektion unter Verwendung mindestens eines ortsauflösenden Detektors, vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, erfolgt.

Für die genannten Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens mit einer polychromatischen Lichtquelle wird ausserdem bevorzugt, dass das Anregungslicht jeweils im wesentlichen parallel eingestrahlt wird.

Besonders bevorzugt wird für eine Vielzahl von Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens, dass das Anregungslicht von mindestens einer Lichtquelle mit einer Aufweitungsoptik möglichst homogen zu einem im wesentlichen parallelen Strahlenbündel aufgeweitet wird und auf die einen oder mehreren Messbereiche eingestrahlt wird. Dabei wird bevorzugt, dass der Durchmesser des eingestrahlten Anregungslichtbündels mindestens in einer Dimension mindestens 2 mm, bevorzugt mindestens 10 mm beträgt.

Eine andere Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von der mindestens einen Lichtquelle durch ein oder, im Falle mehrerer Lichtquellen, gegebenenfalls mehrere diffraktive optische Elemente, vorzugsweise Dammann-Gitter, oder refraktive optische Elemente, vorzugsweise Mikrolinsen-Arrays, in eine Vielzahl von Einzelstrahlen möglichst gleicher Intensität der von einer gemeinsamen Lichtquelle stammenden Teilstrahlen zerlegt wird, welche jeweils im wesentlichen parallel zueinander auf räumlich getrennte Messbereiche eingestrahlt werden.

Eine weitere Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben auf mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen auf einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einer der vorgenannten Ausführungsformen in einem erfindungsgemässen optischen System, mittels Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Gitter-Wellenleiter-Struktur, ist dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer, vorzugsweise monochromatischen, Lichtquelle mit einer Strahlformungsoptik zu einem Strahlenbündel möglichst homogener Intensität und spaltförmigen Querschnitts (in einer Ebene senkrecht zur optischen Achse des Strahlenganges) aufgeweitet wird, dessen Hauptachse parallel zu den Gitterlinien ausgerichtet ist, wobei die Teilstrahlen besagten Strahlenbündels in einer Projektionsebene parallel zu der Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur im wesentlichen parallel zueinander sind, während besagtes Strahlenbündel in einer zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur orthogonalen Ebene eine Konvergenz oder Divergenz mit einem gewissen Konvergenz- bzw. Divergenzwinkels aufweist.

Dabei wird bevorzugt, dass besagter Konvergenz- oder Divergenzwinkel besagten Strahlenbündels in einer zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur orthogonalen Ebene einen Wert von bis zu  $5^\circ$  aufweist.

Besonders bevorzugt wird, dass besagter Konvergenz- oder Divergenzwinkelsbesagten Strahlenbündels in einer zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur orthogonalen Ebene einen Wert von bis zu  $1^\circ$  aufweist.

Ein derartiges erfindungsgemässes Verfahren ist dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, im Bereich der Messbereiche, innerhalb eines spaltförmigen beleuchteten Bereichs nach obiger Ausführungsform durch gleichzeitige Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch gleichzeitige Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch gleichzeitige Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren erfolgt, wobei sich die lokale Änderung der Resonanzbedingungen in einem Messbereich in einer Verschiebung des Maximums des von besagtem Messbereich im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht ausgehenden Lichts sowie des Maximums des von besagtem Messbereich nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht ausgehenden Streulichts und des Minimums des im Bereich besagten Messbereichs transmittierten Lichts (jeweils bei Erfüllung der Resonanzbedingungen in besagtem Messbereich) zeigt, wobei besagte Verschiebung des Minimums bzw. Maximums in einer Ebene parallel zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur senkrecht zu den Gitterlinien erfolgt.

Dieses Verfahren ist ausserdem dadurch gekennzeichnet, dass aus der Grösse besagter Verschiebung des Minimums bzw. Maximums das Ausmass der Änderungen besagter Resonanzbedingungen und damit der Änderungen des effektiven Brechungsindex im Bereich des besagten Messbereichs bestimmt werden kann.



Dieses erfindungsgemässe Verfahren umfasst ausserdem eine Ausführungsform, welche dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen besagter Resonanzbedingungen jeweils gleichzeitig im Bereich der Messbereiche innerhalb eines spaltförmigen, mit einem in einer zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur orthogonalen Ebene innerhalb eines gewissen Winkelbereichs konvergenten oder divergenten Strahlenbündel, nach einer der vorgenannten Ausführungsformen dieses Verfahrens, beleuchteten Bereichs, durch gleichzeitige Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch gleichzeitige Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch gleichzeitige Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren erfolgt,

- wobei sich die lokale Änderung der Resonanzbedingungen in einem Messbereich in einer Verschiebung des Maximums des von besagtem Messbereich im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht ausgehenden Lichts sowie des Maximums des von besagtem Messbereich nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht ausgehenden Streulichts und des Minimums des im Bereich besagten Messbereichs transmittierten Lichts (jeweils bei Erfüllung der Resonanzbedingungen in besagtem Messbereich) zeigt,
- wobei besagte Verschiebung des Minimums bzw. Maximums in einer Ebene parallel zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur senkrecht zu den Gitterlinien erfolgt,

und wobei die Gitter-Wellenleiter-Struktur zur sequentiellen orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen besagter Randbedingungen auf der gesamten Oberfläche besagter Gitter-Wellenleiter-Struktur mit den darauf befindlichen Messbereichen zwischen einzelnen Verfahrensschritten nach besagtem Verfahren senkrecht und / oder parallel zur Ausrichtung der Gitterlinien verschoben wird, bis die Messsignale von allen Messbereichen aufgezeichnet sind und aus den aufgezeichneten Signalen eine zweidimensionale Darstellung des Grades der Erfüllung besagter Resonanzbedingungen auf der gesamten Gitter-Wellenleiter-Struktur erzeugt werden kann.

Das erfindungsgemässe Verfahren nach den vorgenannten Ausführungsformen zeichnet sich dadurch aus, dass die Ortsauflösung zur Bestimmung des Grades der Erfüllung der

Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) durch Wahl einer grösseren Modulationstiefe von Gitterstrukturen (c) verbessert oder Wahl einer kleineren Modulationstiefe besagter Gitterstrukturen verringert werden kann.

Weiterhin ist das erfindungsgemässe Verfahren dadurch gekennzeichnet, dass die Halbwertsbreite des Resonanzwinkels zur Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) durch Verringerung der Modulationstiefe von Gitterstrukturen (c) verringert werden kann, was eine erhöhte Empfindlichkeit bei der orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung als Folge von lokalen Änderungen der Massenbelegung, oder allgemeiner des lokalen effektiven Brechungsindex, zur Folge hat, oder durch Vergrösserung der Modulationstiefe besagter Gitterstrukturen vergrössert werden kann, was eine verringerte Empfindlichkeit bei der orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung als Folge von lokalen Änderungen der Massenbelegung, oder allgemeiner des lokalen effektiven Brechungsindex, zur Folge hat.

Insbesondere kann es zur Verbesserung der Empfindlichkeit, d.h. zur Verringerung der Halbwertsbreite des Resonanzwinkels von Vorteil sein, das Anregungslichts linear polarisiert zur Anregung eines in der Schicht (a) geführten  $TM_0$ -Modes einzustrahlen, da – bei gleicher Gittertiefe und gleicher Dicke der wellenleitenden Schicht (a) typischerweise der Resonanzwinkel zur Anregung eines  $TM_0$ -Modes um einen Faktor 5 bis 10 schärfer definiert, d.h. die entsprechende Halbwertsbreite um diesen Faktor geringer ist als diejenige Halbwertsbreite zur Anregung eines  $TE_0$ -Modes.

Eine bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu den Messbereichen aus der Intensität des, im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht, wieder ausgekoppelten Anregungslichts (d.h. aus der Summe beider Anteile) bestimmt wird.

Eine andere bevorzugte Ausführungsform des Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu den Messbereichen aus der Intensität des transmittierten Anregungslichts bestimmt wird.

Die erstgenannte Ausführungsform ist dadurch gekennzeichnet, dass die lokale Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu einem Messbereich aus einem Maximum der Summe der Intensitäten des reflektierten und des im wesentlichen parallel dazu wieder ausgekoppelten Anregungslichts aus diesem Messbereich bestimmt wird.

Die nachfolgend genannte Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass die lokale Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu einem Messbereich aus einem Minimum der Intensität des transmittierten Anregungslichts bei diesem Messbereich bestimmt wird. In Idealfällen kann die Intensität des transmittierten Anregungslichts dabei fast gegen Null fallen.

Mehrere Ausführungsformen des erfindungsgemässen Verfahrens zeichnen sich dadurch aus, dass Unterschiede des effektiven Brechungsindex, insbesondere in der Massenbelegung, auch innerhalb eines Messbereichs aufgelöst werden können. Es kann daher überraschenderweise mit einem Gitterkoppler-basierenden, bilderzeugenden Verfahren eine Ortsauflösung erreicht werden, die der Auflösung der besten heutzutage gebräuchlichen Scanner für Analytbestimmungen mittels Fluoreszenzdetektion ebenbürtig ist.

In einer anderen Ausführungsform des erfindungsgemässen Verfahrens wird bevorzugt, dass als Anregungslichtquellen zwei oder mehr kohärente Lichtquellen mit gleicher oder unterschiedlicher Emissionswellenlänge verwendet werden.

Wie zuvor genannt, besteht ein wesentlicher Vorteil des erfindungsgemässen Verfahrens darin, dass ein Einsatz irgendwelcher Label (an den Analyt oder seine Analoga oder seine Bindungspartner zu bindender Markierungsmoleküle) grundsätzlich nicht notwendig ist. Zur Erhöhung der Empfindlichkeit kann eine Weiterentwicklung des Verfahrens jedoch vorteilhaft sein, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass zur Vergrösserung der Änderung der Massenbelegung bei der Bindung oder Dissoziation nachzuweisender Analytmoleküle an dieses oder an einen seiner Bindungspartner in einem mehrstufigen Assay ein Massenlabel gebunden ist, welches beispielsweise ausgewählt sein kann aus der Gruppe von Metallkolloiden (z. B. Goldkolloiden), Kunststoff-Partikeln oder -Beads oder anderen Mikropartikeln mit einer monodispersen Grössenverteilung.

Bestandteil des erfindungsgemässen Verfahrens ist auch eine Ausführungsform, welche dadurch gekennzeichnet ist, dass zur Vergrösserung der Änderung des effektiven Brechungsindex bei der Bindung oder Dissoziation nachzuweisender Analytmoleküle an dieses oder an einen seiner Bindungspartner in einem mehrstufigen Assay ein „Absorptionslabel“ gebunden ist, wobei besagtes „Absorptionslabel“ eine Absorptionsbande geeigneter Wellenlänge aufweist, welche Absorption, als Imaginärteil des Brechungsindex, zu einer Änderung des effektiven Brechungsindex im Nahfeld der Gitter-Wellenleiter-Struktur führt. Die mathematisch-physikalischen Verfahren zur Umrechnung des Effekts einer Absorption bei einer bestimmten Wellenlänge auf den Brechungsindex, als Funktion der Wellenlänge, sind aus der Literatur bekannt.

Eine weitere Weiterentwicklung des erfindungsgemässen Verfahrens ist dadurch gekennzeichnet, dass neben der orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur oder Auskopplung eines in der Schicht (a) geführten Lichts zusätzlich eine oder mehrere, im evaneszenten Feld eines in der Schicht (a) geführten Anregungslichts angeregte Lumineszenzen aus einem oder mehreren Messbereichen bestimmt werden.

Diese Weiterentwicklung, als ein kombiniertes bildgebendes Verfahren einer orts aufgelösten Bestimmung des effektiven Brechungsindex und einer orts aufgelösten Lumineszenzmessung, ermöglicht es beispielsweise, die Bindung eines Liganden als Analyten an ein in einem oder mehreren Messbereichen immobilisiertes biologisches oder biochemisches oder synthetisches Erkennungselement als Rezeptor anhand der lokalen Änderung des effektiven Brechungsindex zu bestimmen und eine funktionale Antwort dieses Liganden-Rezeptor-Systems anhand einer Lumineszenzänderung aus besagten Messbereichen zu bestimmen.

Beispielsweise kann es sich bei besagtem Rezeptor-Liganden-System um ein Transmembranrezeptorprotein handeln, an welches ein entsprechender Ligand aus einer zugeführten Probe bindet. Eine funktionale Antwort dieses Rezeptor-Liganden-Systems kann beispielsweise in der Öffnung eines Ionenkanals bestehen, mit der Folge einer lokalen Veränderung des pH oder / und der Ionenkonzentration. Eine solche lokale Änderung kann

beispielsweise unter Verwendung eines Lumineszenzfarbstoffes mit pH-abhängiger oder / und ionenabhängiger Lumineszenzintensität und / oder spektraler Emission erfolgen.

Ebenso ermöglicht dieses erfindungsgemässe kombinierte Messverfahren beispielsweise, die Dichte der immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente als Rezeptoren in einem oder mehreren Messbereichen anhand der Unterschiede zwischen den Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) der Gitter-Wellenleiter-Struktur oder Auskopplung eines in der Schicht (a) geführten Lichts, im Bereich dieser Messbereiche, und den entsprechenden Resonanzbedingungen in deren Umgebung, d.h. ausserhalb besagter Messbereiche, zu bestimmen und die Bindung eines Liganden als Analyten an diese Erkennungselemente anhand einer Lumineszenzänderung aus besagten Messbereichen zu bestimmen.

Dabei ist es möglich, dass (1) die isotrop abgestrahlte Lumineszenz oder (2) in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelte und über Gitterstrukturen (c) ausgekoppelte Lumineszenz oder Lumineszenzen beider Anteile (1) und (2) gleichzeitig gemessen werden.

In dem erfindungsgemässen Verfahren kann zur Erzeugung der Lumineszenz oder Fluoreszenz ein Lumineszenz- oder Fluoreszenzlabel verwendet werden, das bei einer Wellenlänge zwischen 300 nm und 1100 nm angeregt werden kann und emittiert.

Bei den Lumineszenz- oder Fluoreszenzlabeln kann es sich um herkömmliche Lumineszenz- oder Fluoreszenzfarbstoffe oder auch um sogenannte lumineszente oder fluoreszente Nanopartikel, basierend auf Halbleitern (W. C. W. Chan und S. Nie, "Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection", *Science* 281 (1998) 2016 – 2018) handeln.

Das Massenlabel und / oder das Lumineszenzlabel können an den Analyten oder in einem kompetitiven Assay an einen Analogen des Analyten oder in einem mehrstufigen Assay an einen der Bindungspartner der immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen oder an die biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen gebunden sein.

Zusätzlich kann es von Vorteil sein, wenn die einen oder mehreren Lumineszenzen und / oder Bestimmungen von Lichtsignalen bei der Anregungswellenlänge polarisationsselektiv vorgenommen werden. Weiterhin erlaubt das Verfahren die Möglichkeit, dass die einen oder mehreren Lumineszenzen bei einer anderen Polarisation als der des Anregungslichts gemessen werden.

Das erfindungsgemässe Verfahren nach einer der voranstehenden Ausführungsformen ermöglicht eine gleichzeitige oder sequentielle, quantitative oder qualitative Bestimmung eines oder mehrerer Analyten aus der Gruppe von Antikörpern oder Antigenen, Rezeptoren oder Liganden, Chelatoren oder "Histidin-Tag-Komponenten", Oligonukleotiden, DNA- oder RNA-Strängen, DNA- oder RNA-Analoga, Enzymen, Enzymcofaktoren oder Inhibitoren, Lektinen und Kohlehydraten.

Die zu untersuchenden Proben können natürlich vorkommende Körperflüssigkeiten wie Blut, Serum, Plasma, Lymphe oder Urin oder Eigelb sein.

Eine zu untersuchende Probe kann aber auch eine optisch trübe Flüssigkeit, Oberflächenwasser, ein Boden- oder Pflanzenextrakt, eine Bio- oder Syntheseprozessbrühe sein.

Die zu untersuchenden Proben können auch aus biologischen Gewebeteilen entnommen sein.

Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder eines erfindungsgemässen optischen Systems und / oder eines erfindungsgemässen analytischen Systems und / oder eines erfindungsgemässen Verfahrens nach einer der voranstehenden Ausführungsformen zur Bestimmung chemischer, biochemischer oder biologischer Analyten in Screeningverfahren in der Pharmaforschung, der Kombinatorischen Chemie, der Klinischen und Präklinischen Entwicklung, zu Echtzeitbindungsstudien und zur Bestimmung kinetischer Parameter im Affinitätsscreening und in der Forschung, zu qualitativen und quantitativen Analytbestimmungen, insbesondere für die DNA- und RNA-Analytik, für die Erstellung von Toxizitätsstudien sowie für die Bestimmung von Expressionsprofilen sowie zum Nachweis von Antikörpern, Antigenen, Pathogenen oder Bakterien in der pharmazeutischen Produktentwicklung und Forschung, der Human- und Veterinärmedizin, der Agrochemischen Produktentwicklung und Forschung, der

symptomatischen und präsymptomatischen Pflanzendiagnostik, zur Patientenstratifikation in der pharmazeutischen Produktentwicklung und für die therapeutische Medikamentenauswahl, zum Nachweis von Pathogenen, Schadstoffen und Erregern, insbesondere von Salmonellen, Prionen und Bakterien, in der Lebensmittel- und Umweltanalytik.

Mit den nachfolgenden Ausführungsbeispielen soll die Erfindung genauer erläutert und demonstriert werden.

**Beispiel 1:****a) Gitter-Wellenleiter-Struktur**

Es wurde eine Gitter-Wellenleiter-Struktur mit den äusseren Abmessungen 16 mm Breite x 48 mm Länge x 0.7 mm Dicke verwendet. Das Substratmaterial (optisch transparente Schicht (b)) bestand aus AF 45 Glas (Brechungsindex  $n = 1.52$  bei 633 nm). Im Substrat war mittels holographischer Belichtung der Schicht (b) und anschliessendes Ätzen eine durchgehende Struktur eines Oberflächenreliefgitters einer Periode von 360 nm und einer Tiefe von  $25 \pm 5$  nm erzeugt worden, mit Orientierung der Gitterlinien parallel zur ausgewiesenen Breite der Sensorplattform. Die wellenleitende, optisch transparente Schicht (a) auf der optisch transparenten Schicht (b) aus  $Ta_2O_5$  war durch reaktives, magnetfeldunterstütztes DC-Sputtern (siehe DE 4410258) erzeugt worden und hatte einen Brechungsindex von 2.15 bei 633 nm (Schichtdicke 150 nm). Unter Einkoppelbedingungen kann Anregungslicht von 633 nm unter einem Winkel von etwa  $+3^\circ$  zur Normalen der Struktur in die Schicht (a) eingekoppelt (und ausgekoppelt) werden.

Zur Vorbereitung auf die Immobilisierung der biochemischen oder biologischen oder synthetischen Erkennungselemente wurde die Gitter-Wellenleiter-Struktur gereinigt und mit Epoxysilan in Flüssigphase (10 ml (2 % v/v) 3-Glycidyloxypropyltrimethoxysilan und 1 ml (0.2 % v/v) N-Ethyl-diisopropylamin in 500 ml ortho-Xylol silanisiert (7 Stunden bei  $70^\circ\text{C}$ ). Danach wurden mit einem kommerziellen Spotter (Genetic Microsystems 417 Arrayer) Lösungen von 18-mer Oligonukleotiden ( $5'$ -CCGTAACCTCATGATATT- $3'$ -NH<sub>2</sub>) ( $18^*$ -NH<sub>2</sub>) jeweils zwei Arrays von jeweils 16 x 8 Spots (8 Reihen x 16 Spalten) aufgebracht (50 pl pro Spot). Die Konzentration der aufgetragenen Lösungen betrug dabei  $5 \times 10^{-8}$  M  $18^*$ -NH<sub>2</sub>, so dass die erzeugten Spots (ca. 125  $\mu\text{m}$  Durchmesser in einem Zentrum-zu-Zentrum-Abstand von 370  $\mu\text{m}$ ) als Messbereiche eine Massenbelegung von etwa 600 000 Da/ $\mu\text{m}^2$ , entsprechend etwa 1 pg/ $\text{mm}^2$ , aufwiesen.

**b) Optisches System**

Als Anregungslichtquelle diente ein HeNe-Laser mit 1.1 mW Ausgangsleistung (Melles-Griot, 05-LHP-901). Die Polarisation des Lasers war parallel zu den Gitterlinien der Gitter-



Wellenleiter-Struktur ausgerichtet, zur Anregung des  $TE_0$ -Modes unter Einkoppelbedingungen. Der Laserstrahl wurde mit einer Strahlaufweitung siebenfach aufgeweitet und durch eine Blende von 5 mm Durchmesser geführt, um äussere, schwächere Anteile des aufgeweiteten Laserstrahls sowie äussere Beugungserscheinungen zu diskriminieren. Das Laserlicht wurde dann mit einem Neutralfilter (ND 4.7) stark abgeschwächt, um eine Sättigung des Detektors bei der Messung des transmittierten Lichtanteils zu vermeiden. Das Laserlicht war auf die Seite der optisch transparenten Schicht (b) (Substratseite aus AF45-Glas gerichtet), wo die Leistung nach Abschwächung etwa 20 nW betrug.

Die Gitter-Wellenleiter-Struktur war in einer im wesentlichen senkrecht zur optischen Achse des Anregungslichts befindlichen Ebene auf einem manuell verstellbaren Goniometer montiert, mit dem sich der Einstrahlwinkel des Anregungslichts bezüglich der Sensorplattform verändern liess, wobei die Gitterlinien senkrecht zur Projektion des Anregungslichts in die Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur verliefen.

Als ortsauflösender Detektor diente eine CCD-Kamera (Ultra Pix 0401E, Astrocams, Cambridge, UK) mit Peltierkühlung, mit einem Kodak-CCD-Chip KAF 0401 E-1. Die Kamera war zur ortsauflösenden Bestimmung der Intensität des Transmissionslichts, nach dem Durchgang des Anregungslichts durch die optisch transparente, wellenleitende Schicht (a) so ausgerichtet, dass das Transmissionslicht im wesentlichen senkrecht auf die Eintrittslinse der Kamera fiel.

### **c) Messverfahren und Ergebnisse**

Das Messverfahren wurde in Luft, d.h. ohne zusätzliche Probenbehältnisse oder zugeführte Reagentien, durchgeführt. Die Erfüllung der Resonanzbedingung auf den von Messbereichen freien Gebieten der Gitter-Wellenleiter-Struktur ist dabei an dem nahezu vollständigen Verschwinden des Transmissionslichts festzustellen (Fig. 1a), wobei sich unter den gleichen Bedingungen die Nichterfüllung der Resonanzbedingung in den Messbereichen an dem dort überraschend deutlich erhöhten Transmissionssignal (Fig. 1a sowie Fig. 1b mit einem linearen Schnitt durch die Signale durch zwei Messbereiche) zeigt. Der starke Kontrast und die hohe Ortsauflösung sind sehr überraschend, ebenso die aus Fig. 1b zu entnehmende Beobachtung, dass (eine nach dem Depositionsverfahren zu erwartende inhomogene Massenbelegung

innerhalb eines Messbereiches, mit Maximum etwa im Zentrum) mit diesem Messverfahren auch noch aufgelöst werden kann. Äusserst überraschend ist ausserdem die ausserordentlich hohe Empfindlichkeit, welche die Unterschiede in der Massenbelegung (zwischen den Bereichen der Spots und den umgebenden Bereichen), von  $1\text{ pg/mm}^2$ , mit einem ausgezeichneten Kontrast ermöglicht.

Weiterhin wurde überraschend festgestellt, dass bei Einstellung des Koppelwinkels zur Erfüllung der Resonanzbedingung in den Messbereichen dieses auch an den lokalen Minima der Transmission noch festgestellt werden kann (Fig. 2a und 2b; die zwei Spots sind in den Abbildungen durch die Abstandskennzeichnung "370  $\mu\text{m}$ " herausgehoben. Diese Beobachtung ist deswegen überraschend, da das optische System für diese Messung keineswegs optimiert war, wie sich an den überlagerten starken Interferenzerscheinungen in Fig. 2a zeigt. (Diese haben ihre Ursache nicht in physikalischen Effekten der erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur oder des erfindungsgemässen optischen Systems, sondern im provisorischen Charakter des Aufbaus).

## **Beispiel 2:**

### **a) Gitter-Wellenleiter-Struktur**

Es wurde eine Gitter-Wellenleiter-Struktur mit den äusseren Abmessungen 16 mm Breite x 48 mm Länge x 0.7 mm Dicke verwendet. Das Substratmaterial (optisch transparente Schicht (b)) bestand aus AF 45 Glas (Brechungsindex  $n = 1.525$  bei 532 nm). Im Substrat war wiederum eine durchgehende Struktur eines Oberflächenreliefgitters einer Periode von 360 nm und einer Tiefe von 25 nm erzeugt worden, mit Orientierung der Gitterlinien parallel zur ausgewiesenen Breite der Sensorplattform. Die anschliessend darauf wellenleitende, optisch transparente Schicht (a) auf der optisch transparenten Schicht (b) aus  $\text{Ta}_2\text{O}_5$  hatte einen Brechungsindex von 2.137 bei 532 nm (Schichtdicke 150 nm). Unter Einkoppelbedingungen kann Anregungslicht von 532 nm unter einem Winkel von etwa  $+14.3^\circ$  zur Normalen der Struktur in die Struktur eingekoppelt (und ausgekoppelt) werden.

Zur Vorbereitung auf die Immobilisierung der biochemischen oder biologischen oder synthetischen Erkennungselemente wurde die Gitter-Wellenleiter-Struktur gereinigt. Danach wurden mit einem kommerziellen Spotter (GeSim) Lösungen von NeutrAvidin™ in einem Array von 3 x 3 Spots (3 Reihen x 3 Spalten) auf die gereinigte Tantalpentoxid-Oberfläche aufgebracht (500 pl pro Spot). Die Konzentration der aufgetragenen Lösungen betrug dabei  $1.7 \times 10^{-5}$  M NeutrAvidin™, so dass die erzeugten Spots (ca. 430 µm Durchmesser in einem Zentrum-zu-Zentrum-Abstand von 1 mm) als Messbereiche einer Massenbelegung von etwa 4 ng/mm<sup>2</sup>.

#### **b) Optisches System**

Als Anregungslichtquelle diente ein diodengepumpter, frequenz-verdoppelter NdYag-Laser mit 10 mW Ausgangsleistung (Laser 2000). Die Polarisation des Lasers war senkrecht zu den Gitterlinien der Gitter-Wellenleiter-Struktur ausgereichtet, zur Anregung des TM<sub>0</sub>-Modes unter Einkoppelbedingungen. Der Laserstrahl wurde mit einer Strahlaufweitung siebenfach aufgeweitet und durch einen Spalt von 4 mm Breite geführt, um äussere, schwächere Anteile des aufgeweiteten Laserstrahls sowie äussere Beugungserscheinungen zu diskriminieren. Das Laserlicht war auf die Seite der optisch transparenten Schicht (b) (Substratseite aus AF45-Glas gerichtet).

Die Gitter-Wellenleiter-Struktur war so auf einem manuell verstellbaren Goniometer montiert, mit dem sich der Einstrahlwinkel des Anregungslichts bezüglich der Sensorplattform verändern liess, dass die Gitterlinien senkrecht zur Projektion des Anregungslichts in die Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur verliefen. Ein Blättchen hochfeinen weissen Papiers geringer Körnigkeit war als diffus reflektierende Projektionswand auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, zur Erzeugung eines Bildes des transmittierten Anregungslichts, montiert. Da das transmittierte Anregungslicht einen praktisch perfekt parallelen Strahlengang aufwies, war der Abstand zu der im wesentlichen parallel zu ihr ausgerichteten Gitter-Wellenleiter-Struktur über einen grossen Bereich, d.h. zwischen Sub-Millimetern und Dezimetern, frei wählbar ohne signifikanten Kontrastverlust oder Konturverzerrungen.

Als ortsauflösender Detektor diente eine CCD-Kamera (Ultra Pix 0401E, Astrocam, Cambridge, UK) mit Peltierkühlung, mit einem Kodak-CCD-Chip KAF 0401 E-1. Die Kamera war zur ortsaufgelösten Bestimmung

des transmittierten Anregungslichts, mittels Erfassung dessen Bildes auf der oben genannten Projektionswand, und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur montiert.

### **c) Messverfahren und Ergebnisse**

Das Messverfahren wurde in Luft, d.h. ohne zusätzliche Probenbehältnisse oder zugeführte Reagentien, durchgeführt. Dabei wurde für die Erfüllung der Resonanzbedingung in die Schicht (a) ein Unterschied im Koppelwinkel von  $0.124^\circ$ , zwischen Einkopplung auf den Messbereichen und Einkopplung auf den unbeschichteten Bereichen der Gitter-Wellen-Leiter-Struktur, festgestellt.

In Fig. 3 sind die Ergebnisse des Messverfahrens zur ortsaufgelösten Bestimmung des transmittierten Anregungslichts, mittels Erfassung dessen Bildes auf der oben genannten Projektionswand und Positionierung der Kamera auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, dargestellt.

Die Erfüllung der Resonanzbedingung auf den von Messbereichen freien Gebieten der Gitter-Wellenleiter-Struktur ist wiederum an dem weitgehenden Verschwinden des Transmissionslichts festzustellen (bei einem Winkel von  $14.3^\circ$ , Fig. 3, links, und Fig. 3B), wobei sich unter den gleichen Bedingungen die Nichterfüllung der Resonanzbedingung in den Messbereichen an dem um einen Faktor 3 höheren Transmissionssignal (Fig. 3B sowie linker Teil von Fig. 3) zeigt.

Fig. 3C zeigt die umgekehrte Situation, d.h. Erfüllung der Resonanzbedingung zur Lichteinkopplung in die Schicht (a) im Bereich der Messbereiche (bei einem Winkel von  $14.424^\circ$ , siehe Fig. 3 links), mit der Folge minimaler Transmission bei diesem Winkel in den Messbereichen, und Nichterfüllung der Resonanzbedingung in den übrigen Bereichen, mit der

Folge maximaler Transmission. Aus Fig. 3C ist ersichtlich, anhand konzentrisch auftretender, als gepunktete kreisähnliche Linien innerhalb der dunkel auftretenden Messbereiche nahe deren äusserer Ränder erkennbarer, hellerer Bereiche, dass auch unter diesen Bedingungen (mit Anregung transversal magnetisch polarisierter geführter Moden) eine Ortsauflösung deutlich unterhalb des Spotsdurchmessers gegeben ist: Die unterschiedlichen Helligkeitsbereiche innerhalb der Spots zeigen geometrische Inhomogenitäten der Mengen lokal adsorbierter oder immobilisierter Proteine bzw. Erkennungselemente. Das Auftreten solcher Inhomogenitäten bei der Herstellung von Arrays immobilisierter Erkennungselemente ist aus der Fachliteratur bekannt. – Bei der Verwendung von transversal elektrisch polarisiertem anstelle von transversal magnetisch polarisiertem Anregungslicht gleicher Wellenlänge mit derselben Sensorplattform zeigte sich das hohe räumliche Auflösungsvermögen noch deutlicher (hier nicht dargestellt).

### **Beispiel 3: Gleichmässigkeit des Resonanzwinkels zur Lichtein- oder –auskopplung auf einer Fläche entsprechend einem Array von Messbereichen**

Es wird eine Gitter-Wellenleiter-Struktur (mit einem vollflächig modulierten Gitter) mit gleichen vorgegebenen Schicht- und Gitterparametern wie in Beispiel 1.a) verwendet. Auf einer quadratischen Fläche von 5 mm x 5 mm, entsprechend einer typischen Grundfläche für ein gegebenfalls auf einer solchen Struktur zu erzeugendes Array von Messbereichen, soll die Variabilität des Koppelwinkels in x- und y-Richtung (x: senkrecht zu den Gitterlinien, y: parallel zu den Gitterlinien) untersucht werden.

Der parallele Anregungslichtstrahl eines He-Ne-Lasers (633 nm, 0.8 mm Strahldurchmesser) wird unter einem Winkel nahe dem Resonanzwinkel zur Lichteinkopplung in die Schicht (a) auf die Struktur gerichtet. In einem Winkelbereich von etwa  $1^\circ$  oberhalb und unterhalb des Resonanzwinkels wird der Einstrahlwinkel in kleinen Schritten (Schrittweite beispielsweise  $0.02^\circ$ ) variiert. Dabei wird jeweils die Intensität des Streulichts des nach Einkopplung über die Gitterstruktur in der Schicht (a) geführten Lichts mit einem Linsensystem gesammelt und auf einen Photomultiplier, als integralem, nicht ortsauflösendem Detektor, fokussiert. Mit einer Blende in der Zwischenbildebene kann die Grösse der auf den Detektor abgebildeten Fläche der Gitter-Wellenleiter-Struktur beschränkt werden (in diesem Beispiel auf einen Kreis mit 1 mm Durchmesser), insbesondere um ungewünschte Streulichteinflüsse zu vermindern. Die optimale

Justierung zur Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) ist erkennbar an einem maximalen Wert von  $I_r$ . Aus den Resonanzkurven von  $I_r$  als Funktion des Koppelwinkels kann zusätzlich die Halbwertsbreite der zugehörigen Resonanzkurven bestimmt werden.

Das oben beschriebene Messverfahren wurde für 25 (5 x 5) Messpositionen auf der genannten Fläche der Gitter-Wellenleiter-Struktur durchgeführt, in einem jeweiligen (Zentrum-zu-Zentrum-) Abstand von 1 mm. Die Resonanzwinkel der verschiedenen Messpositionen in dem genannten x/y-Raster sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Auf der gesamten Fläche beträgt die Abweichung vom Mittelwert (in diesem Beispiel 2.15°) nicht mehr als 0.06°.

Messposition Nr.	x-Richtung ( $\Delta = 1 \text{ mm}$ )				
y-Richtung ( $\Delta = 1 \text{ mm}$ )	1	2	3	4	5
1	2.15	2.09	2.19	2.25	2.11
2	2.13	2.11	2.19	2.21	2.13
3	2.15	2.13	2.19	2.25	2.15
4	2.09	2.11	2.21	2.19	2.13
5	2.07	2.13	2.19	2.09	2.15

**Tabelle 1:** Variabilität des Resonanzwinkels für optimale Lichtein- und -auskopplung auf einer quadratischen Fläche von 5 mm x 5 mm einer erfindungsgemässen Gitter-Wellenleiter-Struktur (vor Erzeugung der darauf befindlichen Messbereiche).

## Patentansprüche

1. Gitter-Wellenleiter-Struktur zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, umfassend einen optischen Schichtwellenleiter

- mit einer ersten optisch transparenten Schicht (a) auf einer zweiten optisch transparenten Schicht (b) mit niedrigerem Brechungsindex als Schicht (a),
- mit einer oder mehreren Gitterstrukturen (c) zur Einkopplung von Anregungslicht zu den Messbereichen (d) oder Auskopplung von in der Schicht (a) geführtem Licht im Bereich des Messbereiche
- mindestens zwei oder mehr räumlich getrennten Messbereichen (d) auf der einen oder den mehreren Gitterstrukturen (c)
- auf diesen Messbereichen immobilisierten, gleichen oder unterschiedlichen biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen (e) zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer mit den Messbereichen in Kontakt gebrachten Probe,

dadurch gekennzeichnet, dass besagtes Anregungslicht gleichzeitig auf besagtes Array von Messbereichen eingestrahlt wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu den zwei oder mehr Messbereichen gleichzeitig gemessen wird und ein Übersprechen von in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht von einem Messbereich zu einem oder mehreren benachbarten Messbereichen durch Wiederauskopplung dieses Anregungslichts mittels der Gitterstruktur (c) verhindert wird.

2. Gitter-Wellenleiter-Struktur zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem zweidimensionalen Array aus mindestens vier oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, umfassend einen optischen Schichtwellenleiter

- mit einer ersten optisch transparenten Schicht (a) auf einer zweiten optisch transparenten Schicht (b) mit niedrigerem Brechungsindex als Schicht (a),

- mit einer oder mehreren Gitterstrukturen (c) zur Einkopplung von Anregungslicht zu den Messbereichen (d) oder Auskopplung von in der Schicht (a) geführtem Licht im Bereich des Messbereiche
- mindestens zwei oder mehr räumlich getrennten Messbereichen (d) auf der einen oder den mehreren Gitterstrukturen (c)
- auf diesen Messbereichen immobilisierten, gleichen oder unterschiedlichen biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen (e) zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer mit den Messbereichen in Kontakt gebrachten Probe,

dadurch gekennzeichnet, die Dichte der Messbereiche auf einer gemeinsamen Gitterstruktur (c) mindestens 10 Messbereiche pro Quadratcentimeter beträgt und dass besagtes Anregungslicht gleichzeitig auf besagtes Array von Messbereichen eingestrahlt wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu besagten Messbereichen gleichzeitig gemessen wird und ein Übersprechen von in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht von einem Messbereich zu einem oder mehreren benachbarten Messbereichen durch Wiederauskopplung dieses Anregungslichts mittels der Gitterstruktur (c) verhindert wird.

3. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 -2, dadurch gekennzeichnet, dass eine durchgehend modulierte Gitterstruktur (c) sich im wesentlichen über den ganzen Bereich der Gitter-Wellenleiter-Struktur erstreckt.

4. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Ortsauflösung zur Bestimmung des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) besser als 200  $\mu\text{m}$  ist.

5. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Ortsauflösung zur Bestimmung des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) besser als 20  $\mu\text{m}$  ist.

6. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Ortsauflösung zur Bestimmung des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) durch Wahl einer grösseren Modulationstiefe von



Gitterstrukturen (c) verbessert oder Wahl einer kleineren Modulationstiefe besagter Gitterstrukturen verringert werden kann.

7. Gitter-Wellenleiterstruktur nach einem der Ansprüche 1 – 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Halbwertsbreite des Resonanzwinkels zur Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) durch Verringerung der Modulationstiefe von Gitterstrukturen (c) verringert oder durch Vergrößerung der Modulationstiefe besagter Gitterstrukturen vergrößert werden kann.

8. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 7, dadurch gekennzeichnet, dass – ausserhalb der Messbereiche - der Resonanzwinkel zur Ein- oder Auskopplung eines monochromatischen Anregungslichts innerhalb einer Fläche von mindestens  $4 \text{ mm}^2$  (mit Ausrichtung der Seiten parallel oder nicht parallel zu den Linien der Gitterstruktur (c)) um höchstens  $0.1^\circ$  (als Abweichung von einem Mittelwert) variiert.

9. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 8, dadurch gekennzeichnet, dass der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu den Messbereichen (1) aus der Intensität des, im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht, wieder ausgekoppelten Anregungslichts (d.h. aus der Summe beider Anteile) oder (2) aus der Intensität des transmittierten Anregungslichts oder (3) aus der Intensität des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht, oder aus einer beliebigen Kombination der Lichtanteile (1) bis (3) bestimmt wird.

10. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 9, dadurch gekennzeichnet, dass (1) die Summe der Intensitäten des reflektierten und des im wesentlichen parallel dazu wieder ausgekoppelten Anregungslichts oder (2) die Intensität des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht oder (3) eine Kombination der genannten Lichtintensitäten (1) – (2) bei lokaler Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) im Bereich dieses Messbereichs ein Maximum aufweist.

11. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Intensität des transmittierten Anregungslichts bei lokaler Erfüllung der Resonanzbedingung

für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) im Bereich dieses Messbereichs ein Minimum aufweist.

12. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 - 11, dadurch gekennzeichnet, dass sich zwischen den optisch transparenten Schichten (a) und (b) und in Kontakt mit Schicht (a) eine weitere optisch transparente Schicht (b') mit niedrigerem Brechungsindex als dem der Schicht (a) und einer Stärke von 5 nm – 10 000 nm, vorzugsweise von 10 nm - 1000 nm, befindet.

13. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 - 12, dadurch gekennzeichnet, dass zur Immobilisierung biologischer oder biochemischer oder synthetischer Erkennungselementen (e) auf der optisch transparenten Schicht (a) eine Haftvermittlungsschicht (f) mit einer Stärke von vorzugsweise weniger als 200 nm, besonders bevorzugt von weniger als 20 nm aufgebracht ist, und dass die Haftvermittlungsschicht (f) vorzugsweise eine chemische Verbindung aus der Gruppe Silane, Epoxide, funktionalisierte, geladene oder polare Polymere und "selbstorganisierte funktionalisierte Monoschichten" umfasst.

14. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 13, dadurch gekennzeichnet, dass räumlich getrennte Messbereiche (d) durch räumlich selektive Aufbringung von biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen auf besagter Gitter-Wellenleiter-Struktur erzeugt werden, vorzugsweise unter Verwendung eines oder mehrerer Verfahren aus der Gruppe von Verfahren, die von "Ink jet spotting, mechanischem Spotting, micro contact printing, fluidische Kontaktierung der Messbereiche mit den biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen durch deren Zufuhr in parallelen oder gekreuzten Mikrokanälen, unter Einwirkung von Druckunterschieden oder elektrischen oder elektromagnetischen Potentialen", gebildet wird.

15. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach Anspruch 14 dadurch gekennzeichnet, dass als besagte biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselemente Komponenten aus der Gruppe aufgebracht werden, die von Nukleinsäuren (DNA, RNA, Oligonukleotiden) und Nukleinsäureanalogen (z. B. PNA), Antikörpern, Aptameren, membrangebundenen und isolierten Rezeptoren, deren Liganden, Antigene für Antikörper, "Histidin-Tag-Komponenten", durch chemische Synthese erzeugte Kavitäten zur Aufnahme molekularer Imprints, etc. gebildet

wird, oder dass als biologische oder biochemische oder synthetische Erkennungselementen ganze Zellen oder Zellfragmente aufgebracht werden.

16. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 14 - 15, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen den räumlich getrennten Messbereichen (d) gegenüber dem Analyten "chemisch neutrale" Verbindungen aufgebracht sind, vorzugsweise beispielsweise bestehend aus den Gruppen, die von Albuminen, insbesondere Rinderserumalbumin oder Humanserumalbumin, nicht mit zu analysierenden Polynukeotiden hybridisierender, fragmentierter natürlicher oder synthetischer DNA, wie beispielsweise Herings- oder Lachssperma, oder auch ungeladenen, aber hydrophilen Polymeren, wie beispielsweise Polyethylenglycole oder Dextrane, gebildet werden.

17. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 16, dadurch gekennzeichnet, dass in einer 2-dimensionalen Anordnung bis zu 1 000 000 Messbereiche angeordnet sind und ein einzelner Messbereich eine Fläche von 0.001 – 6 mm<sup>2</sup> einnimmt.

18. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 17, dadurch gekennzeichnet, dass eine Vielzahl von Messbereichen in einer Dichte von mehr als 10, bevorzugt mehr als 100, besonders bevorzugt mehr als 1000 Messbereichen pro Quadratzentimeter auf einer gemeinsamen Gitterstruktur (c) angeordnet sind.

19. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 18 dadurch gekennzeichnet, dass die Aussenmasse ihrer Grundfläche mit der Grundfläche von Standard-Mikrotiter-Platten von ca. 8 cm x 12 cm (mit 96 oder 384 oder 1536 Wells) übereinstimmen.

20. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 - 19 dadurch gekennzeichnet, dass Gitterstrukturen (c) diffraktive Gitter mit einer einheitlichen Periode oder multidiffraktive Gitter sind.

21. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 7 oder 10 - 19, dadurch gekennzeichnet, dass eine oder mehrere Gitterstrukturen (c) eine im wesentlichen senkrecht zur Ausbreitungsrichtung des in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelten Anregungslichts räumlich variierende Periodizität aufweisen.

22. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 - 21, dadurch gekennzeichnet, dass das Material der zweiten optisch transparenten Schicht (b) aus Glas, Quarz oder einem transparenten thermoplastischen Kunststoff, beispielsweise aus der Gruppe besteht, die von Polycarbonat, Polyimid oder Polymethylmethacrylat gebildet wird.
23. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 - 22, dadurch gekennzeichnet, dass der Brechungsindex der ersten optisch transparenten Schicht (a) grösser als 1.8 ist.
24. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 - 23, dadurch gekennzeichnet, dass die erste optisch transparente Schicht (a) ein Material aus der Gruppe von  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ,  $\text{Ta}_2\text{O}_5$ ,  $\text{HfO}_2$ , oder  $\text{ZrO}_2$ , besonders bevorzugt aus  $\text{TiO}_2$  oder  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  oder  $\text{Ta}_2\text{O}_5$  umfasst.
25. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 - 24 dadurch gekennzeichnet, dass das Produkt aus der Dicke der ersten optisch transparenten Schicht (a) und ihrem Brechungsindex ein Zehntel bis ein Ganzes, bevorzugt ein Drittel bis zu zwei Drittel, der Anregungswellenlänge eines in die Schicht (a) einzukoppelnden Anregungslichts beträgt.
26. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 - 25, dadurch gekennzeichnet, dass das Gitter (c) eine Periode von 200 nm – 1000 nm aufweist und die Modulationstiefe des Gitters (c) 3 bis 100 nm, bevorzugt 5 bis 30 nm beträgt.
27. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass das Verhältnis von Modulationstiefe zur Dicke der ersten optisch transparenten Schicht (a) gleich oder kleiner als 0,2 ist.
28. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 27, dadurch gekennzeichnet, dass die Gitterstruktur (c) ein Reliefgitter mit Rechteck-, Dreieck- oder halbkreisförmigem Profil oder ein Phasen- oder Volumengitter mit einer periodischen Modulation des Brechungsindex in der im wesentlichen planaren optisch transparenten Schicht (a) ist.
29. Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 28, dadurch gekennzeichnet, dass auf ihr optisch oder mechanisch erkennbare Markierungen zur Erleichterung der Justierung

in einem optischen System und / oder zur Verbindung mit Probenbehältnissen als Teil eines analytischen Systems aufgebracht sind.

30. Optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer Anregungslichtquelle
- einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 29
- mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht.

31. Optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer Anregungslichtquelle
- einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 29
- einer diffus reflektierenden oder / und diffus transmissiven Projektionswand auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, zur Erzeugung eines Bildes des transmittierten Anregungslichts
- und mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des Bildes des transmittierten Anregungslichts auf besagter Projektionswand.

32. Optisches System nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, dass der mindestens eine ortsauflösende Detektor zur Erfassung des Bildes des transmittierten Anregungslichts auf

besagter Projektionswand auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur angeordnet ist.

33. Optisches System nach Anspruch 31, dadurch gekennzeichnet, dass der mindestens eine ortsauflösende Detektor zur Erfassung des Bildes des transmittierten Anregungslichts auf besagter Projektionswand auf der Seite des transmittierten Anregungslichts, d.h. auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, angeordnet ist, wobei besagte Projektionswand mindestens teilweise transmissiv ist.

34. Optisches System mit einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass auf jeder Gitterstruktur (c) mit einer im wesentlichen senkrecht zur Ausbreitungsrichtung des in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelten Anregungslichts räumlich variierenden Periodizität höchstens ein Messbereich angeordnet ist, wobei sich auf der Gitter-Wellenleiter-Struktur in Ausbreitungsrichtung des einzukoppelnden und in der Schicht (a) zu führenden Anregungslichts ein unstrukturierter Bereich der Gitter-Wellenleiter-Struktur anschliesst, und gegebenenfalls daran weiter in Ausbreitungsrichtung des in der Schicht (a) geführten Anregungslichts sich eine weitere Gitterstruktur (c) anschliesst, über welche besagtes geführtes Anregungslicht in Richtung eines ortsauflösenden Detektors wieder ausgekoppelt wird.

35. Optisches System nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, dass Änderungen der Massenbelegung durch Adsorption oder Desorption von Molekülen aus den Messbereichen auf Gitterstrukturen (c) zu einer Verschiebung der lokalen Position der Erfüllung der Resonanzbedingung zur Einkopplung des Anregungslichts in die Schicht (a) über besagte Gitterstruktur (c) im wesentlichen parallel zu den Gitterlinien führt.

36. Optisches System nach einem der Ansprüche 34 - 35, dadurch gekennzeichnet, dass eine eindimensionale Anordnung von mindestens 2 Gitterstrukturen (c) nach Anspruch 21 gleichzeitig mit Anregungslicht bestrahlt wird.

37. Optisches System nach einem der Ansprüche 34- 36, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht im wesentlichen parallel eingestrahlt wird und im wesentlichen monochromatisch ist.

38. Optisches System nach Anspruch 37, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung einer der Schicht (a) geführten  $TE_0$ - oder  $TM_0$ -Modes.

39. Optisches System nach einem der Ansprüche 37 - 38, dadurch gekennzeichnet, dass eine zweidimensionale Anordnung von mindestens 4 Gitterstrukturen (c) nach Anspruch 21 gleichzeitig mit Anregungslicht bestrahlt wird.

40. Optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem zweidimensionalen Array aus mindestens vier oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer Anregungslichtquelle
- einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 29
- einem Positionierelement zur Veränderung des Einstrahlwinkels des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur
- mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht.

41. Optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem zweidimensionalen Array aus mindestens vier oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer Anregungslichtquelle
- einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 29
- einem Positionierelement zur Veränderung des Einstrahlwinkels des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur

- einer diffus reflektierenden oder / und diffus transmissiven Projektionswand auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, zur Erzeugung eines Bildes des transmittierten Anregungslichts
- und mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des Bildes des transmittierten Anregungslichts auf besagter Projektionswand.

42. Optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer über einen gewissen Spektralbereich durchstimbaren Anregungslichtquelle
- einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 29
- mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht.

43. Optisches System nach Anspruch 42, dadurch gekennzeichnet, dass besagte mindestens eine durchstimbare Lichtquelle über einen Spektralbereich von mindestens 5 nm durchgestimmt werden kann.

44. Optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, mit

- mindestens einer in einem gewissen Spektralbereich polychromatischen Anregungslichtquelle
- einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 29



- mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht.

45. Optisches System nach Anspruch 44, dadurch gekennzeichnet, dass besagte mindestens eine polychromatische Lichtquelle eine Emissionsbandbreite von mindestens 5 nm aufweist.

46. Optisches System nach einem der Ansprüche 44 – 45, dadurch gekennzeichnet, dass im Strahlengang zwischen der Gitter-Wellenleiter-Struktur und dem mindestens einen ortsauflösenden Detektor eine spektral selektive optische Komponente mit hoher spektraler Auflösung in besagtem gewissen Spektralbereich angeordnet ist.

47. Optisches System nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, dass besagte spektral selektive Komponente geeignet ist zur Erzeugung von spektral selektiven, orts aufgelösten, zweidimensionalen Darstellungen der Intensitätsverteilungen des von der Gitter-Wellenleiter-Struktur ausgehenden Messlichts bei unterschiedlichen Wellenlängen innerhalb besagten gewissen Spektralbereichs.

48. Optisches System nach einem der Ansprüche 44 – 47, dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, von besagter polychromatischer Lichtquelle im Bereich der Messbereiche, durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mittels innerhalb des besagten gewissen Spektralbereichs spektral selektiver Detektion unter Verwendung mindestens eines ortsauflösenden Detektors, vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, erfolgt.

49. Optisches System nach einem der Ansprüche 40 - 48, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht im wesentlichen parallel eingestrahlt wird.

50. Optisches System nach einem der Ansprüche 40 - 43, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht im wesentlichen monochromatisch eingestrahlt wird.

51. Optisches System nach einem der Ansprüche 40 - 50, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung eines in der Schicht (a) geführten  $TE_0$ - oder  $TM_0$ -Modes.

52. Optisches System nach einem der Ansprüche 40 - 51, dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, im Bereich der Messbereiche, durch sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren unter Veränderung des Einstrahlwinkels des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur erfolgt.

53. Optisches System nach einem der Ansprüche 42 - 51, dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, im Bereich der Messbereiche, durch sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren unter Veränderung der Emissionswellenlänge einer durchstimmbaren Lichtquelle, vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, erfolgt.

54. Optisches System nach einem der Ansprüche 30 - 53, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer Lichtquelle mit einer Aufweitungsoptik möglichst homogen zu einem im wesentlichen parallelen Strahlenbündel aufgeweitet wird und auf die einen oder mehreren Messbereiche eingestrahlt wird.

55. Optisches System nach Anspruch 54, dadurch gekennzeichnet, dass der Durchmesser des eingestrahnten Anregungslichtbündels mindestens in einer Dimension mindestens 2 mm, bevorzugt mindestens 10 mm beträgt.

56. Optisches System nach einem der Ansprüche 30 - 53, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von der mindestens einen Lichtquelle durch ein oder, im Falle mehrerer Lichtquellen, gegebenenfalls mehrere diffraktive optische Elemente, vorzugsweise Dammann-Gitter, oder refraktive optische Elemente, vorzugsweise Mikrolinsen-Arrays, in eine Vielzahl von Einzelstrahlen möglichst gleicher Intensität der von einer gemeinsamen Lichtquelle stammenden Teilstrahlen zerlegt wird, welche jeweils im wesentlichen parallel zueinander auf räumlich getrennte Messbereiche eingestrahlt werden.

57. Optisches System nach einem der Ansprüche 30 - 39, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer, vorzugsweise monochromatischen Lichtquelle mit einer Strahlformungsoptik zu einem Strahlenbündel möglichst homogener Intensität und spaltförmigen Querschnitts (in einer Ebene senkrecht zur optischen Achse des Strahlenganges) aufgeweitet wird, dessen Hauptachse parallel zu den Gitterlinien ausgerichtet ist, wobei die Teilstrahlen besagten Strahlenbündels in einer Projektionsebene parallel zu der Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur im wesentlichen parallel zueinander sind, während besagtes Strahlenbündel in einer zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur orthogonalen Ebene eine Konvergenz oder Divergenz mit einem gewissen Konvergenz- bzw. Divergenzwinkels aufweist.

58. Optisches System nach einem der Ansprüche 57, dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, im Bereich der Messbereiche, innerhalb eines spaltförmig beleuchteten Bereichs durch gleichzeitige Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch gleichzeitige Erfassung des im

wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch gleichzeitige Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren erfolgt, wobei sich die lokale Änderung der Resonanzbedingungen in einem Messbereich in einer Verschiebung des Maximums des von besagtem Messbereich im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht ausgehenden Lichts sowie des Maximums des von besagtem Messbereich nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht ausgehenden Streulichts und des Minimums des im Bereich besagten Messbereichs transmittierten Lichts (jeweils bei Erfüllung der Resonanzbedingungen in besagtem Messbereich) zeigt, wobei besagte Verschiebung des Minimums bzw. Maximums in einer Ebene parallel zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur senkrecht zu den Gitterlinien erfolgt.

59. Optisches System nach einem der Ansprüche 30 - 58, dadurch gekennzeichnet, dass als Anregungslichtquellen zwei oder mehr kohärente Lichtquellen mit gleicher oder unterschiedlicher Emissionswellenlänge verwendet werden.

60. Optisches System nach Anspruch 59, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von 2 oder mehr kohärenten Lichtquellen gleichzeitig oder sequentiell aus verschiedenen Richtungen auf eine Gitterstruktur (c) eingestrahlt wird, welche eine Überlagerung von Gitterstrukturen mit unterschiedlicher Periodizität umfasst.

61. Optisches System nach einem der Ansprüche 30 - 60, dadurch gekennzeichnet, dass zur Detektion mindestens ein ortsauflösender Detektor verwendet wird, beispielsweise aus der Gruppe, die von CCD-Kameras, CCD-Chips, Photodioden-Arrays, Avalanche-Dioden-Arrays, Multichannelplates und Vielkanal-Photomultiplier gebildet wird.

62. Optisches System nach einem der Ansprüche 30 - 61, dadurch gekennzeichnet, dass zwischen der einen oder mehreren Anregungslichtquellen und der Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 - 29 und /oder zwischen besagter Gitter-Wellenleiter-Struktur und dem einen oder mehreren Detektoren optische Komponenten aus der Gruppe verwendet werden, die von Linsen oder Linsensystemen zur Formgestaltung der übertragenen Lichtbündel, planaren

oder gekrümmten Spiegeln zur Umlenkung und gegebenenfalls zusätzlich zur Formgestaltung von Lichtbündeln, Prismen zur Umlenkung und gegebenenfalls zur spektralen Aufteilung von Lichtbündeln, dichroischen Spiegeln zur spektral selektiven Umlenkung von Teilen von Lichtbündeln, Neutralfiltern zur Regelung der übertragenen Lichtintensität, optischen Filtern oder Monochromatoren zur spektral selektiven Übertragung von Teilen von Lichtbündeln oder polarisationsselektiven Elementen zur Auswahl diskreter Polarisationsrichtungen des Anregungs- oder Lumineszenzlichts gebildet werden.

63. Optisches System nach einem der Ansprüche 30 - 62, dadurch gekennzeichnet, dass die Einstrahlung des Anregungslichts in Pulsen mit einer Dauer zwischen 1 fsec und 10 Minuten erfolgt und das Emissionslicht aus den Messbereichen zeitlich aufgelöst gemessen wird.

64. Optisches System nach einem der Ansprüche 30 - 63, dadurch gekennzeichnet, dass die Einstrahlung des Anregungslichts und die Detektion des von einem oder mehreren Messbereichen ausgehenden Lichts sequentiell für einzelne oder mehrere Messbereiche erfolgt.

65. Optisches System nach Anspruch 64, dadurch gekennzeichnet, dass sequentielle Anregung und Detektion unter Verwendung beweglicher optischer Komponenten erfolgt, die aus der Gruppe von Spiegeln, Umlenkprismen und dichroischen Spiegeln gebildet wird.

66. Optisches System nach einem der Ansprüche 64 - 65, dadurch gekennzeichnet, dass die Gitter-Wellenleiter-Struktur zwischen Schritten der sequentiellen Anregung und Detektion bewegt wird.

67. Optisches System zur orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, zum Nachweis eines oder mehrerer Analyten in mindestens einer Probe auf einem oder mehreren Messbereichen auf einer Gitter-Wellenleiter-Struktur, mit

- einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 29
- einem optischen System nach einem der Ansprüche 30 – 66 sowie

- Zuführungsmitteln, um die eine oder mehrere Proben mit den Messbereichen auf der Gitter-Wellenleiter-Struktur in Kontakt zu bringen.

68. Optisches System nach Anspruch 67, dadurch gekennzeichnet, dass dieses zusätzlich eine oder mehrere Probenbehältnisse umfasst, welche mindestens im Bereich der einen oder mehreren Messbereiche oder der zu Segmenten zusammengefassten Messbereiche zur Gitter-Wellenleiter-Struktur hin geöffnet sind, wobei die Probenbehältnisse vorzugsweise jeweils ein Volumen von 0.1 nl – 100 µl haben.

69. Optisches System nach Anspruch 68, dadurch gekennzeichnet, dass die Probenbehältnisse auf der von der optisch transparenten Schicht (a) abgewandten Seite, mit Ausnahme von Ein- und / oder Auslassöffnungen für die Zufuhr oder den Auslass der Proben und gegebenenfalls zusätzlicher Reagentien, geschlossen sind und die Zufuhr oder der Auslass von Proben und gegebenenfalls zusätzlicher Reagentien in einem geschlossenen Durchflusssystem erfolgen, wobei im Falle der Flüssigkeitszufuhr zu mehreren Messbereichen oder Segmenten mit gemeinsamen Einlass- und Auslassöffnungen diese bevorzugt spalten- oder zeilenweise adressiert werden.

70. Optisches System nach einem der Ansprüche 67 – 69, dadurch gekennzeichnet, dass Behältnisse für Reagentien vorgesehen sind, welche während des Verfahrens zum Nachweis des einen oder mehrerer Analyten benetzt und mit den Messbereichen in Kontakt gebracht werden

71. Verfahren zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben auf mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen auf einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 29 in einem optischen System nach einem der Ansprüche 34 - 70, mittels Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Gitter-Wellenleiter-Struktur, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer Anregungslichtquelle auf eine Gitterstruktur (c) mit darauf befindlichen besagten Messbereichen geleitet wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu besagten Messbereichen aus dem Signal von mindestens einem ortsauflösenden

Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht bestimmt wird.

72. Verfahren zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben auf mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen auf einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass auf jeder Gitterstruktur (c) mit einer im wesentlichen senkrecht zur Ausbreitungsrichtung des in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelten Anregungslichts räumlich variierenden Periodizität höchstens ein Messbereich angeordnet ist, wobei sich auf der Gitter-Wellenleiter-Struktur in Ausbreitungsrichtung des einzukoppelnden und in der Schicht (a) zu führenden Anregungslichts ein unstrukturierter Bereich der Gitter-Wellenleiter-Struktur anschliesst, und gegebenenfalls daran weiter in Ausbreitungsrichtung des in der Schicht (a) geführten Anregungslichts sich eine weitere Gitterstruktur (c) anschliesst, über welche besagtes geführtes Anregungslicht in Richtung eines ortsauflösenden Detektors wieder ausgekoppelt wird.

73. Verfahren nach Anspruch 72, dadurch gekennzeichnet, dass Änderungen des lokalen effektiven Brechungsindex, insbesondere der Massenbelegung durch Adsorption oder Desorption von Molekülen aus den Messbereichen auf Gitterstrukturen (c) zu einer Verschiebung der lokalen Position der Erfüllung der Resonanzbedingung zur Einkopplung des Anregungslichts in die Schicht (a) über besagte Gitterstruktur (c) im wesentlichen parallel zu den Gitterlinien führen.

74. Verfahren nach einem der Ansprüche 72 - 73, dadurch gekennzeichnet, dass eine eindimensionale Anordnung von mindestens 2 Gitterstrukturen (c) nach Anspruch 21 gleichzeitig mit Anregungslicht bestrahlt wird.

75. Verfahren nach einem der Ansprüche 72 - 74, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht im wesentlichen parallel eingestrahlt wird und im wesentlichen monochromatisch ist.

76. Verfahren nach Anspruch 75, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung eines in der Schicht (a) geführten  $TE_0$ - oder  $TM_0$ -Modes.
77. Verfahren nach einem der Ansprüche 75 - 76, dadurch gekennzeichnet, dass eine zweidimensionale Anordnung von mindestens 4 Gitterstrukturen (c) nach Anspruch 21 gleichzeitig mit Anregungslicht bestrahlt wird.
78. Verfahren zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben auf mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen auf einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 29, mittels Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, mit einem zweidimensionalen Array aus mindestens vier oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Plattform, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer Anregungslichtquelle auf eine Gitterstruktur (c) mit darauf befindlichen besagten Messbereichen geleitet wird und der Grad der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) zu besagten Messbereichen aus dem Signal von mindestens einem ortsauflösenden Detektor zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts, gegebenenfalls unter Verwendung einer diffus reflektierenden oder / und diffus transmissiven Projektionswand auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gegenüberliegenden Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur, zur Erzeugung eines Bildes des transmittierten Anregungslichts, und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht bestimmt wird und mittels eines Positionierelements der Einstrahlwinkel des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur verändert wird, so dass besagte Resonanzbedingung bei unterschiedlichen Winkeln im Bereich unterschiedlicher Messbereiche auf einer bestrahlten Gitterstruktur (c), in Abhängigkeit von dem lokalen effektiven Brechungsindex, erfüllt ist.



79. Verfahren nach Anspruch 78, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht im wesentlichen parallel eingestrahlt wird und im wesentlichen monochromatisch ist

80. Verfahren nach Anspruch 79, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht linear polarisiert eingestrahlt wird, zur Anregung eines in der Schicht (a) geführten  $TE_0$ - oder  $TM_0$ -Modes.

81. Verfahren nach einem der Ansprüche 78 – 80, dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts im Bereich der Messbereiche durch sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlteten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren unter Veränderung des Einstrahlwinkels des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur erfolgt.

82. Verfahren nach Anspruch 71, dadurch gekennzeichnet, dass der Einstrahlwinkel des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur so eingestellt wird, dass die Resonanzbedingung zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter einer Gitter-Wellenleiter-Struktur oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Gitter-Wellenleiter-Struktur,

auf einem oder mehreren dieser Messbereiche im wesentlichen erfüllt ist, mit der Folge eines im wesentlichen maximalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlteten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht, aus dem Bereich dieser Messbereiche, und / oder eines im wesentlichen minimalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts im Bereich der Messbereiche

oder zwischen den Messbereichen im wesentlichen erfüllt ist, mit der Folge eines im wesentlichen maximalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht, aus den Bereichen zwischen diesen Messbereichen, und / oder eines im wesentlichen minimalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts aus den Bereichen zwischen diesen Messbereichen.

83. Verfahren nach Anspruch 82, dadurch gekennzeichnet, dass lokale Unterschiede des effektiven Brechungsindex im Bereich verschiedener Messbereiche und in den Bereichen zwischen den Messbereichen aus lokalen Unterschieden der Intensitäten eines oder mehrerer ortsauflösender Detektoren, zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht bestimmt werden, ohne dass der eingestellte Einstrahlwinkel des Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur verändert wird.

84. Verfahren nach Anspruch 71, dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts von mindestens einer über einen gewissen Spektralbereich durchstimmbaren Lichtquelle im Bereich der Messbereiche durch sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch sequentielle Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren unter Veränderung der Emissionswellenlänge besagter mindestens einer durchstimmbaren Lichtquelle, vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, erfolgt.

85. Verfahren nach Anspruch 71, dadurch gekennzeichnet, dass die Emissionswellenlänge mindestens einer durchstimmbaren Lichtquelle, vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, so eingestellt wird, dass die Resonanzbedingung zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter einer Gitter-Wellenleiter-Struktur oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Gitter-Wellenleiter-Struktur,

auf einem oder mehreren dieser Messbereiche im wesentlichen erfüllt ist, mit der Folge eines im wesentlichen maximalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht, aus dem Bereich dieser Messbereiche, und / oder eines im wesentlichen minimalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts im Bereich der Messbereiche

oder zwischen den Messbereichen im wesentlichen erfüllt ist, mit der Folge eines im wesentlichen maximalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht, aus den Bereichen zwischen diesen Messbereichen, und / oder eines im wesentlichen minimalen Signals eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts aus den Bereichen zwischen diesen Messbereichen.

86. Verfahren nach Anspruch 71, dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts von mindestens einer in einem gewissen Spektralbereich polychromatischen Lichtquelle im Bereich der Messbereiche durch Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahlten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren,

vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, erfolgt, wobei sich jeweils in den Bereichen, in denen für eine bestimmte Wellenlänge des Anregungslichts von der polychromatischen Lichtquelle die Resonanzbedingung zur Einkopplung dieses Anregungslichts in einen Wellenleiter der Gitter-Wellenleiter-Struktur oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts dieser Wellenlänge erfüllt ist, ein maximaler Signalanteil dieser Wellenlänge am Signal eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder zur Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslichts, aus dem Bereich dieser Messbereiche, und / oder ein minimaler Signalanteil dieser Wellenlänge am Signal eines ortsauflösenden Detektors zur Erfassung des transmittierten Anregungslichts im Bereich der Messbereiche ergibt.

87. Verfahren nach Anspruch 86, dadurch gekennzeichnet, dass im Strahlengang zwischen der Gitter-Wellenleiter-Struktur und dem mindestens einen ortsauflösenden Detektor eine spektral selektive optische Komponente mit hoher spektraler Auflösung in besagtem gewissen Spektralbereich angeordnet ist.

88. Verfahren nach Anspruch 87, dadurch gekennzeichnet, dass mithilfe besagter spektral selektiver Komponente spektral selektive, ortsaufgelöste, zweidimensionale Darstellungen der Intensitätsverteilungen des von der Gitter-Wellenleiter-Struktur ausgehenden Messlichts bei unterschiedlichen Wellenlängen innerhalb besagten gewissen Spektralbereichs erzeugt werden können.

89. Verfahren nach einem der Ansprüche 86 – 88, dadurch gekennzeichnet, dass die ortsaufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, von besagter polychromatischer Lichtquelle im Bereich der Messbereiche, durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch gleichzeitige oder sequentielle Erfassung des

Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mittels innerhalb des besagten gewissen Spektralbereichs spektral selektiver Detektion unter Verwendung mindestens eines ortsauflösenden Detektors, vorzugsweise unter konstantem Einstrahlwinkel dieses Anregungslichts auf die Gitter-Wellenleiter-Struktur, erfolgt.

90. Verfahren nach einem der Ansprüche 86 – 89, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht jeweils im wesentlichen parallel eingestrahlt wird.

91. Verfahren nach einem der Ansprüche 71 – 90, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von der mindestens einen Lichtquelle durch ein oder, im Falle mehrerer Lichtquellen, gegebenenfalls mehrere diffraktive optische Elemente, vorzugsweise Dammann-Gitter, oder refraktive optische Elemente, vorzugsweise Mikrolinsen-Arrays, in eine Vielzahl von Einzelstrahlen möglichst gleicher Intensität der von einer gemeinsamen Lichtquelle stammenden Teilstrahlen zerlegt wird, welche jeweils im wesentlichen parallel zueinander auf räumlich getrennte Messbereiche eingestrahlt werden.

92. Verfahren nach Anspruch 71, dadurch gekennzeichnet, dass das Anregungslicht von mindestens einer, vorzugsweise monochromatischen, Lichtquelle mit einer Strahlformungsoptik zu einem Strahlenbündel möglichst homogener Intensität und spaltförmigen Querschnitts (in einer Ebene senkrecht zur optischen Achse des Strahlenganges) aufgeweitet wird, dessen Hauptachse parallel zu den Gitterlinien ausgerichtet ist, wobei die Teilstrahlen besagten Strahlenbündels in einer Projektionsebene parallel zu der Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur im wesentlichen parallel zueinander sind, während besagtes Strahlenbündel in einer zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur orthogonalen Ebene eine Konvergenz oder Divergenz mit einem gewissen Konvergenz- bzw. Divergenzwinkels aufweist.

93. Verfahren nach Anspruch 92, dadurch gekennzeichnet, dass besagter Konvergenz- oder Divergenzwinkels besagten Strahlenbündels in einer zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur orthogonalen Ebene einen Wert von bis zu  $5^\circ$  aufweist.

94. Verfahren nach einem der Ansprüche 92 – 93, dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, im

Bereich der Messbereiche, innerhalb eines spaltförmig beleuchteten Bereichs durch gleichzeitige Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch gleichzeitige Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch gleichzeitige Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren erfolgt, wobei sich die lokale Änderung der Resonanzbedingungen in einem Messbereich in einer Verschiebung des Maximums des von besagtem Messbereich im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht ausgehenden Lichts sowie des Maximums des von besagtem Messbereich nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht ausgehenden Streulichts und des Minimums des im Bereich besagten Messbereichs transmittierten Lichts (jeweils bei Erfüllung der Resonanzbedingungen in besagtem Messbereich) zeigt, wobei besagte Verschiebung des Minimums bzw. Maximums in einer Ebene parallel zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur senkrecht zu den Gitterlinien erfolgt.

95. Verfahren zum qualitativen und / oder quantitativen Nachweis eines oder mehrerer Analyten in einer oder mehreren Proben auf mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen auf einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 29 in einem optischen System nach einem der Ansprüche 34 - 70, mittels Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in einen Wellenleiter oder Auskopplung eines im Wellenleiter geführten Lichts, mit einem Array aus mindestens zwei oder mehr, räumlich getrennten Messbereichen (d) auf dieser Gitter-Wellenleiter-Struktur,

dadurch gekennzeichnet, dass die orts aufgelöste Bestimmung von Änderungen besagter Resonanzbedingungen jeweils gleichzeitig im Bereich der Messbereiche innerhalb eines spaltförmigen beleuchteten Bereichs, durch gleichzeitige Erfassung des transmittierten Anregungslichts und / oder durch gleichzeitige Erfassung des im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht wieder ausgekoppelten Lichts auf der, bezüglich des eingestrahnten Anregungslichts, gleichen Seite der Gitter-Wellenleiter-Struktur und / oder durch gleichzeitige Erfassung des Streulichts von nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht mit jeweils einem oder mehreren ortsauflösenden Detektoren erfolgt,

- wobei sich die lokale Änderung der Resonanzbedingungen in einem Messbereich in einer Verschiebung des Maximums des von besagtem Messbereich im wesentlichen parallel zum reflektierten Licht ausgehenden Lichts sowie des Maximums des von besagtem Messbereich nach Einkopplung über eine Gitterstruktur (c) in der Schicht (a) geführtem Anregungslicht ausgehenden Streulichts und des Minimums des im Bereich besagten Messbereichs transmittierten Lichts (jeweils bei Erfüllung der Resonanzbedingungen in besagtem Messbereich) zeigt,
- wobei besagte Verschiebung des Minimums bzw. Maximums in einer Ebene parallel zur Ebene der Gitter-Wellenleiter-Struktur senkrecht zu den Gitterlinien erfolgt,

und wobei die Gitter-Wellenleiter-Struktur zur sequentiellen orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen besagter Randbedingungen auf der gesamten Oberfläche besagter Gitter-Wellenleiter-Struktur mit den darauf befindlichen Messbereichen zwischen einzelnen Verfahrensschritten senkrecht und / oder parallel zur Ausrichtung der Gitterlinien verschoben wird, bis die Messsignale von allen Messbereichen aufgezeichnet sind und aus den aufgezeichneten Signalen eine zweidimensionale Darstellung des Grades der Erfüllung besagter Resonanzbedingungen auf der gesamten Gitter-Wellenleiter-Struktur erzeugt werden kann.

96. Verfahren nach einem der Ansprüche 78 – 95, dadurch gekennzeichnet, dass die Ortsauflösung zur Bestimmung des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) durch Wahl einer grösseren Modulationstiefe von Gitterstrukturen (c) verbessert oder Wahl einer kleineren Modulationstiefe besagter Gitterstrukturen verringert werden kann.

97. Verfahren nach einem der Ansprüche 78 – 96, dadurch gekennzeichnet, dass die Halbwertsbreite des Resonanzwinkels zur Erfüllung der Resonanzbedingung für die Lichteinkopplung in die Schicht (a) durch Verringerung der Modulationstiefe von Gitterstrukturen (c) verringert werden kann, was eine erhöhte Empfindlichkeit bei der orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung als Folge von lokalen Änderungen der Massenbelegung zur Folge hat, oder durch Vergrößerung der Modulationstiefe besagter Gitterstrukturen vergrößert werden kann, was eine verringerte Empfindlichkeit bei der orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen des Grades der Erfüllung der Resonanzbedingung als Folge von lokalen Änderungen der Massenbelegung zur Folge hat.

98. Verfahren nach einem der Ansprüche 78 – 97, dadurch gekennzeichnet, dass Unterschiede in der Massenbelegung und / oder des effektiven Brechungsindex auch innerhalb eines Messbereichs aufgelöst werden können.

99. Verfahren nach einem der Ansprüche 71 - 98, dadurch gekennzeichnet, dass als Anregungslichtquellen zwei oder mehr kohärente Lichtquellen mit gleicher oder unterschiedlicher Emissionswellenlänge verwendet werden.

100. Verfahren nach einem der Ansprüche 71 – 99, dadurch gekennzeichnet, dass zur Vergrößerung der Änderung der Massenbelegung bei der Bindung oder Dissoziation nachzuweisender Analytmoleküle an dieses oder an einen seiner Bindungspartner in einem mehrstufigen Assay ein Massenlabel gebunden ist, welches beispielsweise ausgewählt sein kann aus der Gruppe von Metallkolloiden (z. B. Goldkolloiden), Kunststoff-Partikeln oder -Beads oder anderen Mikropartikeln mit einer monodispersen Grössenverteilung.

101. Verfahren nach einem der Ansprüche 71 – 100, dadurch gekennzeichnet, dass zur Vergrößerung der Änderung des effektiven Brechungsindex bei der Bindung oder Dissoziation nachzuweisender Analytmoleküle an dieses oder an einen seiner Bindungspartner in einem mehrstufigen Assay ein „Absorptionslabel“ gebunden ist, wobei besagtes „Absorptionslabel“ eine Absorptionsbande geeigneter Wellenlänge aufweist, welche Absorption, als Imaginärteil des Brechungsindex, zu einer Änderung des effektiven Brechungsindex im Nahfeld der Gitter-Wellenleiter-Struktur führt.

102. Verfahren nach einem der Ansprüche 71 – 101, dadurch gekennzeichnet, dass neben der orts aufgelösten Bestimmung von Änderungen der Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) einer Gitter-Wellenleiter-Struktur oder Auskopplung eines in der Schicht (a) geführten Lichts nach einem der Ansprüche 1 – 29 zusätzlich eine oder mehrere, im evaneszenten Feld eines in der Schicht (a) geführten Anregungslichts angeregte Lumineszenzen aus einem oder mehreren Messbereichen bestimmt werden.

103. Verfahren nach Anspruch 102, dadurch gekennzeichnet, dass die Bindung eines Liganden als Analyten an ein in einem oder mehreren Messbereichen immobilisiertes biologisches oder



biochemisches oder synthetisches Erkennungselement als Rezeptor anhand der lokalen Änderung des effektiven Brechungsindex bestimmt wird und eine funktionale Antwort dieses Liganden-Rezeptor-Systems anhand einer Lumineszenzänderung aus besagten Messbereichen bestimmt wird.

104. Verfahren nach Anspruch 102, dadurch gekennzeichnet, dass die Dichte der immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselemente als Rezeptoren in einem oder mehreren Messbereichen anhand der Unterschiede zwischen den Resonanzbedingungen zur Einkopplung eines Anregungslichts in die Schicht (a) der Gitter-Wellenleiter-Struktur oder Auskopplung eines in der Schicht (a) geführten Lichts, im Bereich dieser Messbereiche, und den entsprechenden Resonanzbedingungen in deren Umgebung, d.h. ausserhalb besagter Messbereiche, bestimmt wird und die Bindung eines Liganden als Analyten an diese Erkennungselemente anhand einer Lumineszenzänderung aus besagten Messbereichen bestimmt wird.

105. Verfahren nach einem der Ansprüche 102 – 104, dadurch gekennzeichnet, dass (1) die isotrop abgestrahlte Lumineszenz oder (2) in die optisch transparente Schicht (a) eingekoppelte und über die Gitterstruktur (c) ausgekoppelte Lumineszenz oder Lumineszenzen beider Anteile (1) und (2) gleichzeitig gemessen werden.

106. Verfahren nach einem der Ansprüche 102 - 105, dadurch gekennzeichnet, dass zur Erzeugung der Lumineszenz ein Lumineszenzfarbstoff oder lumineszentes Nanopartikel als Lumineszenzlabel verwendet wird, das bei einer Wellenlänge zwischen 300 nm und 1100 nm angeregt werden kann und emittiert.

107. Verfahren nach einem der Ansprüche 100 – 106, dadurch gekennzeichnet, dass das Massenlabel und / oder Lumineszenzlabel an den Analyten oder in einem kompetitiven Assay an einen Analog des Analyten oder in einem mehrstufigen Assay an einen der Bindungspartner der immobilisierten biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen oder an die biologischen oder biochemischen oder synthetischen Erkennungselementen gebunden ist.

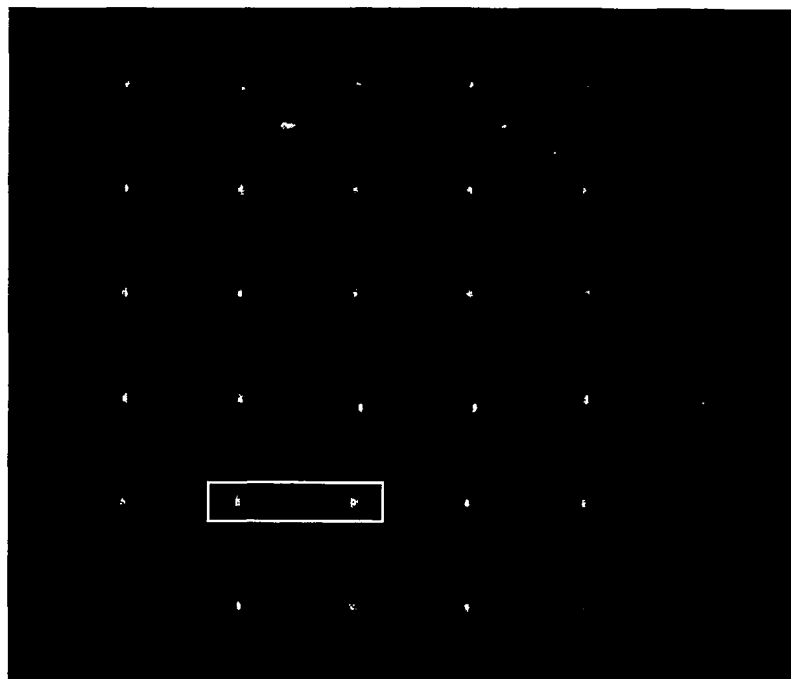
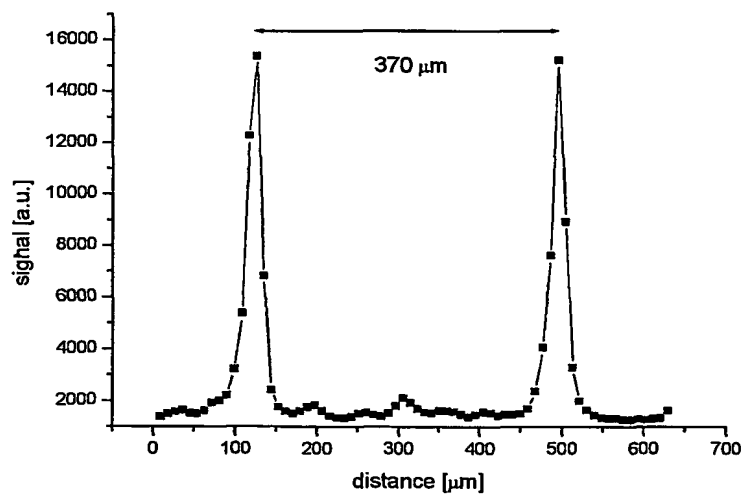
108. Verfahren nach einem der Ansprüche 102 – 107, dadurch gekennzeichnet, dass die einen oder mehreren Lumineszenzen und / oder Bestimmungen von Lichtsignalen bei der Anregungswellenlänge polarisationsselektiv vorgenommen werden, wobei vorzugsweise die einen oder mehreren Lumineszenzen bei einer anderen Polarisation als der des Anregungslichts gemessen werden.

109. Verfahren nach einem der Ansprüche 71 – 108 zur gleichzeitigen oder sequentiellen, quantitativen oder qualitativen Bestimmung eines oder mehrerer Analyten aus der Gruppe von Antikörpern oder Antigenen, Rezeptoren oder Liganden, Chelatoren oder “Histidin-tag-Komponenten”, Oligonukleotiden, DNA- oder RNA-Strängen, DNA- oder RNA-Analoga, Enzymen, Enzymcofaktoren oder Inhibitoren, Lektinen und Kohlehydraten.

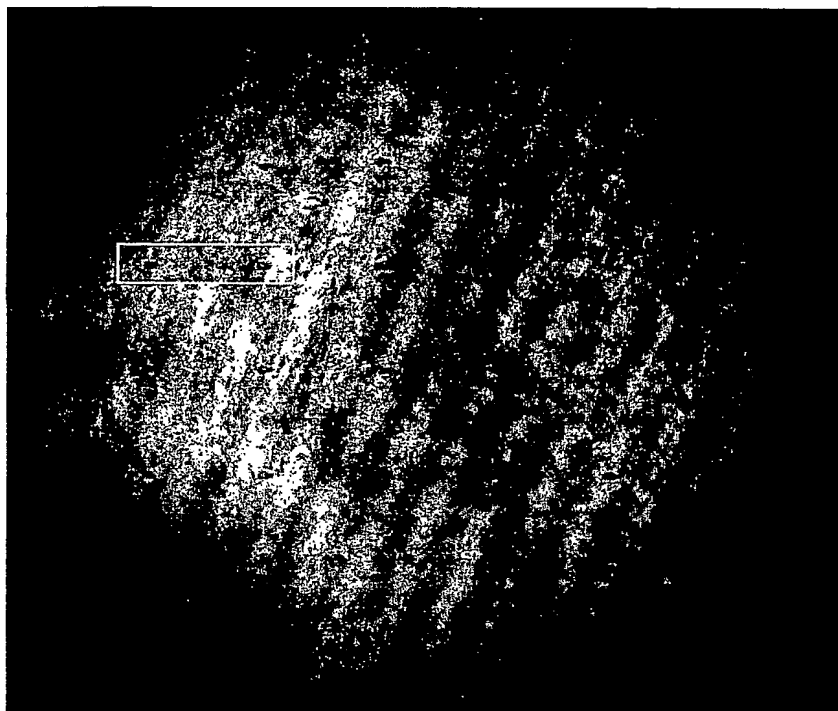
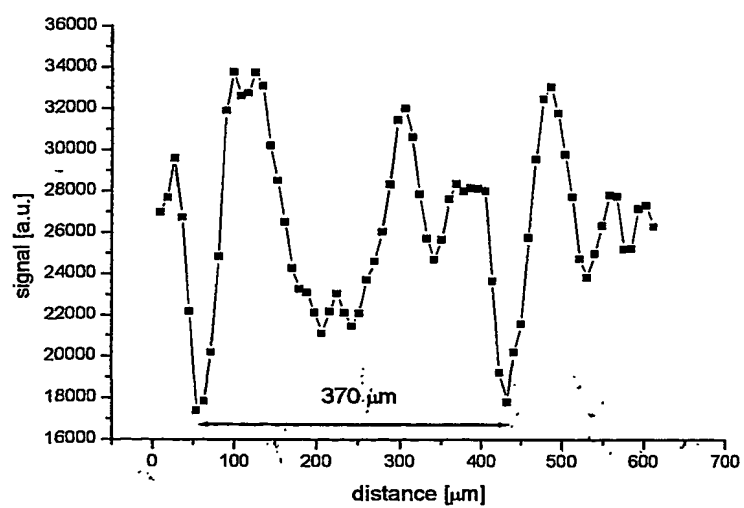
110. Verfahren nach einem der Ansprüche 71 – 109, dadurch gekennzeichnet, dass die zu untersuchenden Proben natürlich vorkommende Körperflüssigkeiten wie Blut, Serum, Plasma, Lymphe oder Urin oder Eigelb oder optisch trübe Flüssigkeiten oder Oberflächenwasser oder Boden- oder Pflanzenextrakte oder Bio- oder Syntheseprozessbrühen oder aus biologischen Gewebeteilen entnommen sind.

111. Verwendung einer Gitter-Wellenleiter-Struktur nach einem der Ansprüche 1 – 29 und / oder eines optischen Systems nach einem der Ansprüche 30 – 70 und / oder eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 71 – 110 zu qualitativen und / oder quantitativen Analysen zur Bestimmung chemischer, biochemischer oder biologischer Analyten in Screeningverfahren in der Pharmaforschung, der Kombinatorischen Chemie, der Klinischen und Präklinischen Entwicklung, zu Echtzeitbindungsstudien und zur Bestimmung kinetischer Parameter im Affinitätscreening und in der Forschung, zu qualitativen und quantitativen Analytbestimmungen, insbesondere für die DNA- und RNA-Analytik, für die Erstellung von Toxizitätsstudien sowie für die Bestimmung von Expressionsprofilen sowie zum Nachweis von Antikörpern, Antigenen, Pathogenen oder Bakterien in der pharmazeutischen Produktentwicklung und -forschung, der Human- und Veterinärdiagnostik, der Agrochemischen Produktentwicklung und -forschung, der symptomatischen und präsymptomatischen Pflanzendiagnostik, zur Patientenstratifikation in der pharmazeutischen Produktentwicklung und für die therapeutische Medikamentenauswahl, zum Nachweis von Pathogenen, Schadstoffen und Erregern, insbesondere von Salmonellen, Prionen und Bakterien, in der Lebensmittel- und Umweltanalytik.

1 / 3

**Fig. 1a****Fig. 1b**

2 / 3

**Fig. 2a****Fig. 2b**

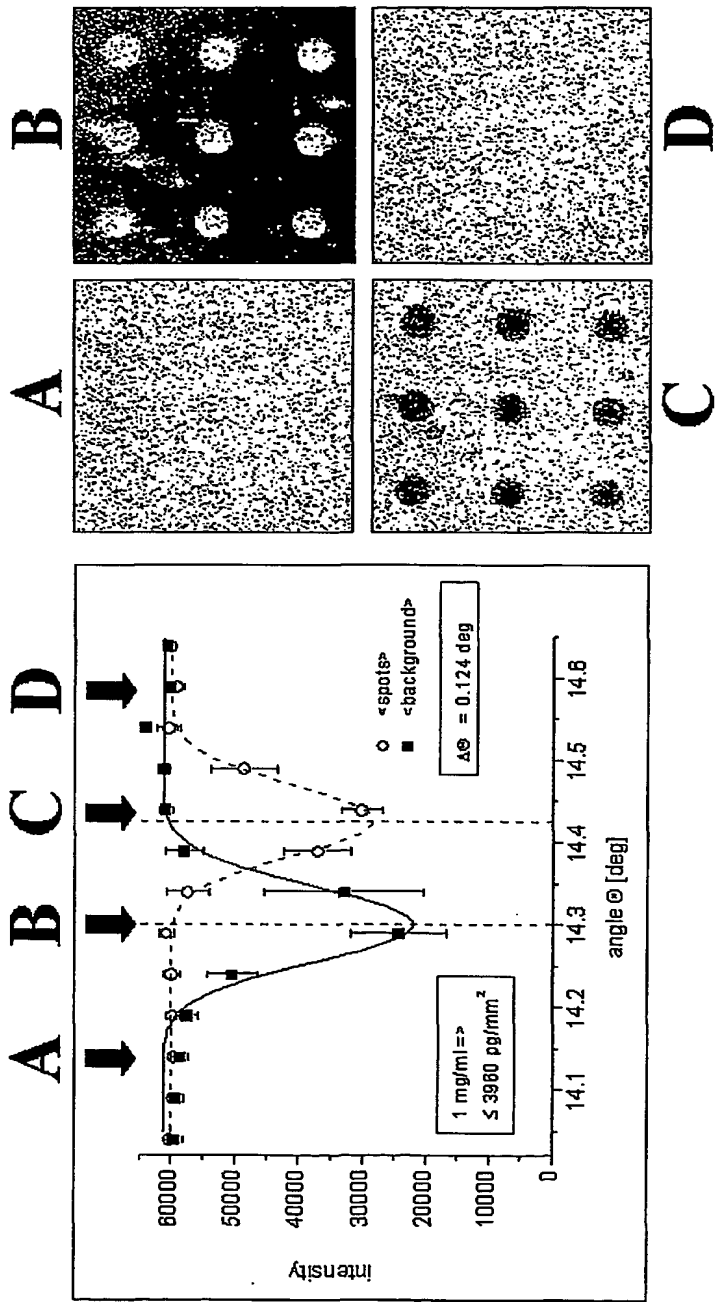


Fig. 3

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter Application No

PCT/EP 01/00605

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC 7 G01N21/77 G01N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, INSPEC

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5 442 169 A (KUNZ RINO E) 15 August 1995 (1995-08-15)  column 4, line 44 -column 8, line 62	1, 2, 30, 31, 40-42, 44, 67, 71, 72, 78, 95, 111
A	WO 99 13320 A (TIEFENTHALER KURT ;ARTIFICIAL SENSING INSTR ASI A (CH)) 18 March 1999 (1999-03-18)  page 9, line 6 -page 11, line 9  -/--	1, 2, 30, 31, 40-42, 44, 67, 71, 72, 78, 95, 111

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

\*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

\*E\* earlier document but published on or after the international filing date

\*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

\*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

\*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*G\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

26 April 2001

Date of mailing of the international search report

04/05/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

De Buyzer, H

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter  
PCT/Er  
pplication No  
01/00605

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 98 22799 A (CIBA GEIGY AG ; HELG ANDREAS (CH); OROSZLAN PETER (CH); BRUNO ALFRE) 28 May 1998 (1998-05-28) cited in the application claim 1 ---	1
A	US 5 738 825 A (PFEFFERKORN ROLAND ET AL) 14 April 1998 (1998-04-14) cited in the application the whole document -----	1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

 International Publication No.  
 PCT/EP 01/00605

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5442169	A	15-08-1995	AT 145725 T	15-12-1996
			CA 2086338 A	27-10-1992
			WO 9219976 A	12-11-1992
			DE 59207589 D	09-01-1997
			EP 0538425 A	28-04-1993
WO 9913320	A	18-03-1999	EP 1012580 A	28-06-2000
WO 9822799	A	28-05-1998	EP 0843172 A	20-05-1998
			EP 0843173 A	20-05-1998
			AU 6291498 A	10-06-1998
			EP 0938656 A	01-09-1999
			US 6198869 B	06-03-2001
US 5738825	A	14-04-1998	DE 69420375 D	07-10-1999
			DE 69420375 T	18-05-2000
			EP 0660924 A	05-07-1995
			JP 8504955 T	28-05-1996
			WO 9503538 A	02-02-1995



**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**

IPK 7 G01N21/77 G01N33/543

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, INSPEC

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	US 5 442 169 A (KUNZ RINO E) 15. August 1995 (1995-08-15)  Spalte 4, Zeile 44 -Spalte 8, Zeile 62	1, 2, 30, 31, 40-42, 44, 67, 71, 72, 78, 95, 111
A	WO 99 13320 A (TIEFENTHALER KURT ;ARTIFICIAL SENSING INSTR ASI A (CH)) 18. März 1999 (1999-03-18)  Seite 9, Zeile 6 -Seite 11, Zeile 9 ----- -/-	1, 2, 30, 31, 40-42, 44, 67, 71, 72, 78, 95, 111



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*&\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

26. April 2001

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

04/05/2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

De Buyzer, H

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 98 22799 A (CIBA GEIGY AG ;HELG ANDREAS (CH); OROSZLAN PETER (CH); BRUNO ALFRE) 28. Mai 1998 (1998-05-28) in der Anmeldung erwähnt Anspruch 1 -----	1
A	US 5 738 825 A (PFEFFERKORN ROLAND ET AL) 14. April 1998 (1998-04-14) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	1

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung

die zur selben Patentfamilie gehören

Int

Aktenzeichen

PCT/EP 01/00605

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum d r Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 5442169	A	15-08-1995	AT	145725 T	15-12-1996
			CA	2086338 A	27-10-1992
			WO	9219976 A	12-11-1992
			DE	59207589 D	09-01-1997
			EP	0538425 A	28-04-1993
<hr/>					
WO 9913320	A	18-03-1999	EP	1012580 A	28-06-2000
<hr/>					
WO 9822799	A	28-05-1998	EP	0843172 A	20-05-1998
			EP	0843173 A	20-05-1998
			AU	6291498 A	10-06-1998
			EP	0938656 A	01-09-1999
			US	6198869 B	06-03-2001
<hr/>					
US 5738825	A	14-04-1998	DE	69420375 D	07-10-1999
			DE	69420375 T	18-05-2000
			EP	0660924 A	05-07-1995
			JP	8504955 T	28-05-1996
			WO	9503538 A	02-02-1995
<hr/>					

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record

## BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images  
problems checked, please do not report the  
problems to the IFW Image Problem Mailbox**